



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA**

**DIVERSIDAD GENÉTICA DEL GENOMA MITOCONDRIAL DE  
*SPHYRNA LEWINI* (CARCHARHINIFORMES: SPHYRNIDAE) EN  
ZONAS DE CRIANZA DEL PACÍFICO MEXICANO**

**TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRA EN CIENCIAS  
BIOLOGÍA MARINA**

**PRESENTA:  
LORAY PAULINA ROSALES LÓPEZ**

**TUTOR PRINCIPAL:**

**DR. PÍNDARO DÍAZ JAIMES**  
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM

**COMITÉ TUTOR:**

**DR. JUAN NUÑEZ FARFÁN - Instituto de Ecología, UNAM**  
**DR. JOSÉ LEONARDO CASTILLO GENIZ - CRIP Ensenada, B.C., INAPESCA**  
**DR. ANTONIO CORGOS LÓPEZ-PRADO - Centro Universitario de la Costa Sur, UdeG**  
**DR. JUAN CARLOS PÉREZ JIMÉNEZ - ECOSUR**

**CD. MX., DICIEMBRE, 2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**DIVERSIDAD GENÉTICA DEL GENOMA MITOCONDRIAL DE  
*SPHYRNA LEWINI* (CARCHARHINIFORMES: SPHYRNIDAE) EN  
ZONAS DE CRIANZA DEL PACÍFICO MEXICANO**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:  
**MAESTRA EN CIENCIAS  
BIOLOGÍA MARINA**

PRESENTA:  
**LORAY PAULINA ROSALES LÓPEZ**

**TUTOR PRINCIPAL:**

DR. PÍNDARO DÍAZ JAIMES  
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM

**COMITÉ TUTOR:**

DR. JUAN NUÑEZ FARFÁN - Instituto de Ecología, UNAM  
DR. JOSÉ LEONARDO CASTILLO GENIZ - CRIP Ensenada, B.C., INAPESCA  
DR. ANTONIO CORGOS LÓPEZ-PRADO - Centro Universitario de la Costa Sur, UdeG  
DR. JUAN CARLOS PÉREZ JIMÉNEZ - ECOSUR

**MÉXICO, CD. MX., DICIEMBRE, 2018**

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología por los recursos económicos y académicos que brindó para tener una experiencia de maestría irrepetible, así como al personal del ICMYL por su disposición.

A CONACYT por la beca otorgada durante mis estudios, a PAPIIT (IG201215) y a Alianza WWF-Fundación Carlos Slim por los recursos económicos para los análisis requeridos en esta tesis.

Al Dr. Píndaro Díaz Jaimes por la confianza y por su gran dedicación, teniendo siempre consejos y palabras de ánimo durante mi camino académico estos años.

A los integrantes del jurado por su tiempo y sus valiosas contribuciones en las revisiones que ayudaron a forjar este trabajo. Al Dr. José Leonardo Castillo Geniz por contagiar esa gran pasión por los tiburones y por su compromiso tan activo. Al Dr. Juan Carlos Pérez Jiménez por mostrar otros enfoques con sus acertadas sugerencias y por su gran disposición. Al Dr. Juan Nuñez Farfán por la constante curiosidad para entender mejor a los tiburones y por sus palabras de ánimo. Al Dr. Antonio Corgos López-Prado por compartir su experiencia y por las muestras proporcionadas al laboratorio.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por ser el centro de mi formación profesional desde sus inicios, además de en otros ámbitos que siguen ampliando mi perspectiva y enriqueciendo mi camino. Por supuesto también a aquellos maestros que me sorprenden con esa pasión que se mantiene e incluso se intensifica con los años de experiencia.

A los miembros del laboratorio que con su buena energía contribuyen a tener un ambiente de trabajo siempre disfrutable, convirtiendo el tiempo juntos en recuerdos entrañables. A Jose y Pedro por su gran disposición para enseñarme todo lo que sé de librerías.

A mis amigos por su cariño, incondicionalidad y apoyo a lo largo de nuestros caminos, que pueden acercarse y alejarse pero que siguen y seguirán conectados. Particularmente a ti por motivarme a cambiar mis perspectivas, por ser un apoyo constante, por las sonrisas y por la calma que me inspiras desde el flanco más auténtico.

A mi familia por su gran corazón y por demostrar que los lazos trascienden sólo siendo auténticos.

Especialmente a mis padres por su amor tan puro, con el que nunca me han dejado caer y me alientan a conocer este mundo tal y como es, con sus maravillas, retos y dificultades, pero siempre con la oportunidad de aprender. Son un ejemplo incomparable e invaluable de personas, y espero algún día estar a la altura.

# ÍNDICE

RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	3
I. INTRODUCCIÓN .....	5
1.1 Marco teórico.....	9
1.1.1 Aspectos biológicos y pesqueros de la especie .....	9
1.1.2 ADN mitocondrial .....	14
1.2 Antecedentes.....	16
1.3 Hipótesis.....	20
1.4 Objetivos.....	20
II. MATERIAL Y MÉTODOS.....	21
2.1 Área de estudio .....	21
2.1.1 Clima .....	23
2.1.2 Dinámica litoral .....	24
2.2 Diseño de muestreo .....	26
2.2.1 Recolección de muestras .....	26
2.2.2 Extracción del ADN mitocondrial.....	27
2.2.3 Genotipificación del ADN mitocondrial .....	28
2.3 Análisis de datos.....	30
III. RESULTADOS .....	33
3.1 Enfoque del análisis.....	33
3.2 Diversidad genética .....	34
3.2.1 Genoma mitocondrial .....	36
3.2.2 Porción codificante para proteínas .....	36
3.2.3 Genes y región control.....	37
3.3 Red de haplotipos .....	38

3.4 Divergencia genética .....	41
3.4.1 Divergencia entre estados .....	41
3.4.2 Divergencia entre regiones .....	45
IV. DISCUSIÓN.....	49
4.1 Diversidad genética .....	49
4.2 Divergencia genética .....	54
V. CONCLUSIONES.....	63
VI. RECOMENDACIONES .....	64
LITERATURA CITADA.....	65
ANEXOS .....	76

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vista lateral y ventral de <i>Sphyrna lewini</i> y área de distribución. Tomado de Fischer <i>et al.</i> (1995) y Compagno (1984) .....	11
Figura 2. ADN mitocondrial de <i>Sphyrna lewini</i> .....	15
Figura 3. Área de estudio y sitios de muestreo.....	21
Figura 4. Red de haplotipos del genoma mitocondrial de <i>Sphyrna lewini</i> .....	38
Figura 5. Curvas de refracción de la riqueza haplotípica por estados .....	40
Figura 6. Red de conectividad de los estados muestreados. (a) Barrera de flujo genético más probable detectada con el algoritmo de máxima diferencia de Monmonier.....	44

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Coordenadas geográficas de las localidades muestreadas .....	23
Tabla II. Programa del termociclador para la amplificación de los fragmentos del genoma mitocondrial.....	29
Tabla III. Secuencias de genoma mitocondrial de neonatos y juveniles de <i>S. lewini</i> por localidad en el Pacífico mexicano. ....	33
Tabla IV. Estimadores de diversidad genética del genoma mitocondrial, porción codificante de proteínas, genes y región control .....	35
Tabla V. Estimación de $\Phi_{ST}$ pareadas por estado del genoma mitocondrial.....	42
Tabla VI. Estimación de $\Phi_{ST}$ pareadas por estado de la porción codificante para proteínas. ....	42
Tabla VII. Estimación de $\Phi_{ST}$ pareadas por estado del gen ND2.....	42
Tabla VIII. Estimación de $\Phi_{ST}$ pareadas por estado de la región control. ....	43
Tabla IX. Estimación de $\Phi_{ST}$ pareadas por estado del gen ND5 .....	43
Tabla X. Estimación de $F_{ST}$ pareadas por estado del gen ND5.....	43
Tabla XI. Estimación de $F_{ST}$ pareadas por estado de la región control.....	44
Tabla XII. Análisis de varianza molecular (AMOVA) de todas las secuencias del gen ND2 por diferencias pareadas por estado.....	45

Tabla XIII. Estimación de $\Phi_{ST}$ pareadas por región del genoma mitocondrial.....	46
Tabla XIV. Estimación de $\Phi_{ST}$ pareadas por región de la porción codificante para proteínas.. .....	46
Tabla XV. Estimación de $\Phi_{ST}$ pareadas por región del gen ND5. ....	46
Tabla XVI. Estimación de $\Phi_{ST}$ pareadas por región del gen ND2. ....	46
Tabla XVII. Estimación de $\Phi_{ST}$ pareadas por región de la región control.....	47
Tabla XVIII. Estimación de $F_{ST}$ pareadas por región del genoma mitocondrial. ....	47
Tabla XIX. Análisis de varianza molecular (AMOVA) por frecuencias haplotípicas del genoma mitocondrial por regiones. ....	48

## ANEXOS

Tabla A1. Estimadores de diversidad genética para todas las porciones analizadas por estado.....	76
Tabla A2. Estimadores de diversidad genética para todas las porciones analizadas por región.....	76
Tabla A3. Análisis de varianza molecular (AMOVA) de todas las secuencias del gen ND2 por frecuencias haplotípicas por región.....	77
Tabla A4. Estimación de $F_{ST}$ por frecuencias haplotípicas de la región control por región. ....	77
Tabla A5. Variación de la señal de divergencia pareadas y estructura genética del genoma mitocondrial por región de acuerdo al tamaño de muestra.....	78

## RESUMEN

*Sphyrna lewini* es una especie de tiburón martillo ampliamente distribuida a nivel mundial con gran movilidad que se encuentra en peligro de extinción de acuerdo a la UICN, al ser explotada por las pesquerías. Las especies de elasmobranquios ampliamente distribuidas generalmente presentan estructura genética debido a filopatría natal, dado que las hembras migran a las zonas costeras donde nacieron para dar a luz a sus crías. En general, los elasmobranquios poseen tasas mutacionales bajas en el ADN mitocondrial y porciones muy conservadas, por lo que usar el genoma mitocondrial completo provee mayor cantidad de sitios informativos para inferir la composición de linajes maternos en las poblaciones. Por esa razón, se caracterizó la diversidad y divergencia genética del genoma mitocondrial del tiburón martillo en zonas de crianza del Pacífico mexicano, y así determinar si la especie presenta filopatría natal a escala regional o específica, con el fin de contribuir al diseño de estrategias de conservación para lograr la sustentabilidad pesquera de la especie.

Se procesaron 198 muestras de neonatos y juveniles procedentes de la captura comercial de Sinaloa y Nayarit (región norte), Jalisco (región centro), Oaxaca y Chiapas (región sur) entre 2013 y 2016. Se analizó el genoma mitocondrial completo, así como la porción codificante para proteínas y los genes con mayor polimorfismo de manera independiente y concatenada. Se calcularon los estimadores de diversidad y la divergencia genética por localidad, estado y por región geográfica.

Los genes ND5, ND2 y la región control fueron las porciones de mayor polimorfismo, aunque la región control demostró no ser útil para la especie al ser la única porción que mostró resultados discordantes de divergencia a nivel de regiones entre el centro con el norte y sur. El genoma mitocondrial completo fue el enfoque más informativo, obteniendo 115 sitios polimórficos y 66 haplotipos, con una diversidad haplotípica alta  $H = 0.925$  y una diversidad nucleotídica baja  $\pi = 0.00023$ .

En cuanto a la estructura genética, se obtuvieron valores de divergencia moderados entre Oaxaca con Sinaloa ( $\Phi_{ST} = 0.111$ ,  $P = 0.001$ ) y Jalisco ( $\Phi_{ST} = 0.083$ ,  $P = 0.004$ ), mientras que por región fue entre norte y sur con un valor menor aunque significativo ( $\Phi_{ST} = 0.031$ ,

$P < 0.002$ ), siendo la agrupación por regiones la escala geográfica más adecuada para detectar divergencia genética, pero se sugiere un mayor tamaño de muestra por estados.

La distribución de algunos haplotipos y riqueza similar en estados vecinos (Sinaloa-Nayarit y Oaxaca-Chiapas) aún utilizando el genoma mitocondrial completo exclusivamente de organismos inmaduros el patrón de divergencia entre regiones sugiere filopatría regional, siendo necesario contrastar con marcadores nucleares y técnicas complementarias como marcaje y telemetría.

Palabras clave: *Sphyrna lewini*, genoma mitocondrial, filopatría, estructura genética

## ABSTRACT

The scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*) is a coastal and semioceanic species with high dispersal capability. It is considered as endangered globally according to the IUCN, because of the exploitation caused by commercial fisheries. Many elasmobranch species widely distributed tend to exhibit population genetic structure due to natal philopatry, as females have their offspring in the coastal areas they were born. Elasmobranchs are characterized by display of low mutational rates in its mitochondrial DNA (mtDNA) and very conserved portions; therefore using the complete mitochondrial genome provides more informative sites to infer the composition of maternal lineages within populations. The genetic diversity and divergence of the mitochondrial genome of *S. lewini* was characterized in estuaries of the Mexican Pacific, which they use as breeding areas, to determine if the species exhibit natal or regional philopatric behavior, which can contribute to the design of strategies to achieve fisheries sustainability.

The mitochondrial genomes of 198 organisms were sampled, corresponding to neonates and juveniles from the commercial catch obtained from Sinaloa and Nayarit (northern region), Jalisco (central region), Oaxaca and Chiapas (southern region) between 2013 and 2016. Analyses were based on the whole mtDNA, as well as on the protein coding portion and the most polymorphic genes, individually and concatenated. Genetic diversity and divergence were estimated by site, state and region.

Genes ND5, ND2 and the control region were the most polymorphic portions in the mitogenome, although the control region was not useful for the species, being the only approach that showed divergence between central region with northern and southern regions. Whole mitogenome was the most informative approach, obtaining 115 variable sites and 73 haplotypes, with a high haplotypic diversity  $H = 0.925$  and a low nucleotide diversity  $\pi = 0.00023$ .

Regarding the population genetic structure, moderate but significant divergence values were obtained for estuaries grouped into counties, between Oaxaca with Sinaloa ( $F_{ST} = 0.111$ ,  $P = 0.001$ ) and Jalisco ( $F_{ST} = 0.083$ ,  $P = 0.004$ ), while into regions genetic divergence was observed between northern and southern regions with a lower but

significant value ( $F_{ST} = 0.031$ ,  $P < 0.002$ ), being the grouping by regions the most adequate for greater resolution, but a greater sample size by states is suggested.

Haplotype distributions and similar richness between neighbor states (Sinaloa-Nayarit and Oaxaca-Chiapas), in addition to the fact that even using the complete mitochondrial genome of immature organisms exclusively showed divergence between regions suggests regional philopatry, being necessary to contrast with nuclear markers and complementary techniques such as tracking and telemetry.

Keywords: *Sphyrna lewini*, mitogenome, philopatry, genetic structure

## I. INTRODUCCIÓN

Los estudios genéticos han tenido auge durante las últimas décadas en la ecología evolutiva, siendo relevantes en su aplicación para el diseño de planes de manejo pesquero y conservación (Dudgeon *et al.*, 2012; Escovar-Fadul *et al.*, 2017). La filogeografía ha permitido entender los procesos históricos y contemporáneos que han generado los patrones de distribución regionales y globales actuales en distintos organismos mediante marcadores moleculares en un contexto evolutivo (Avise, 2009; Avise *et al.*, 1987; Hickerson *et al.*, 2010).

La identificación de movimientos migratorios y estructura genética entre poblaciones en organismos marinos con gran vagilidad es compleja, debido a que están sujetos a un rango considerable de variables ambientales y a las fuerzas evolutivas, que alteran las frecuencias alélicas dentro de las poblaciones (Garrido-Garduño y Vázquez-Domínguez, 2013; Momigliano *et al.*, 2017). La mutación genera variación en los genes, la cual puede fijarse o eliminarse de manera aleatoria como en caso de la deriva génica. La selección natural favorece variantes que mejoran la capacidad reproductiva y/o de supervivencia de los organismos, y junto con la deriva génica generan divergencia de las frecuencias alélicas mientras se mantenga aislamiento reproductivo durante generaciones futuras. En contraparte, el flujo génico mantiene las frecuencias alélicas entre poblaciones y tiende a homogeneizarlas mediante el intercambio genético entre sus individuos (Futuyma, 2005; Hueter *et al.*, 2005).

De acuerdo a Heist (2004), los organismos marinos ampliamente distribuidos presentan bajos niveles de estructura genética al tener un rango de movimiento amplio. Sin embargo, la ausencia aparente de barreras geográficas para las poblaciones de estos organismos no implica que sean panmícticas, pudiendo consistir de unidades independientes debido a eventos históricos, ya sean geológicos o climáticos, que generaran discontinuidad en su flujo génico o por aspectos de comportamiento específicos (Portnoy *et al.*, 2015). Un mecanismo de comportamiento que genera diferenciación entre poblaciones en ausencia de barreras al flujo génico muy estudiado en tiburones es la filopatría (Dudgeon *et al.*, 2012; Escovar-Fadul *et al.*, 2017).

La filopatría se define como la tendencia de un individuo a regresar o permanecer en un sitio particular (Mayr, 1963) para utilizarlo como zona de crianza, de reproducción o de alimentación por múltiples años, siendo un fenómeno que genera estructura poblacional y diferencias genéticas entre poblaciones donde no existen barreras físicas que limiten o impidan el flujo génico entre ellas. Puede ser dominante o específica en un sexo, en cuyo caso el flujo genético está mediado solamente por el sexo opuesto, existiendo segregación sexual tal y como se ha reportado en algunos tiburones donde las hembras son filopátricas (Hueter *et al.*, 2005).

Existen diversas variantes de este comportamiento, siendo la filopatría reproductiva de las más importantes, e involucra el retorno a un área particular de manera recurrente para reproducirse o para dar a luz (Feldheim *et al.*, 2004; Hueter *et al.*, 2005). Probablemente, la variante más estudiada y documentada en elasmobranchios es la filopatría natal, que implica el retorno de las hembras a sus zonas de nacimiento para utilizarlas como zonas de crianza, permaneciendo las crías ahí varios meses o años. Este patrón resulta en la diferenciación genética de los linajes y una segregación discrecional de haplotipos, a partir de los cuales se puede estimar el grado de fidelidad a un sitio y el flujo génico entre zonas de crianza que se encuentren a distancias menores que el rango de dispersión conocido para los organismos (Escovar-Fadul *et al.*, 2017; Hueter *et al.*, 2005).

Una característica importante de la filopatría es su especificidad en la escala geográfica en función de qué tan cerca los individuos regresan a los mismos sitios donde nacieron, lo que permite identificar escalas apropiadas para acciones de manejo (Flowers *et al.*, 2016). En caso de que los organismos regresen a la misma localidad en la que nacieron se denomina filopatría específica. Por lo general, los organismos marinos con tiempos de maduración tardíos regresan a áreas natales, pero no exactamente a la misma localidad sino a un rango de regiones contiguas, lo cual se conoce como filopatría regional, lo cual posiblemente se relaciona con el periodo amplio entre el nacimiento y la primera reproducción (Chapman *et al.*, 2015; Feldheim *et al.*, 2014).

El comportamiento filopátrico es más común en especies grandes que tienen segregación por tamaños, con estrategias reproductivas que implican un gasto de energía considerable al poseer tiempos de gestación extensos (Dudgeon *et al.*, 2012). Así, la selección natural

puede contribuir a la existencia del comportamiento filopátrico si la utilización de estas áreas aumenta la sobrevivencia de juveniles, lo cual es de gran relevancia ya que los tiburones no presentan cuidado parental (Hueter *et al.*, 2005; Mourier y Planes, 2013; Portnoy *et al.*, 2015). Sin embargo, en la actualidad este comportamiento hace a las poblaciones más vulnerables a factores climáticos y antropológicos en áreas costeras (destrucción de hábitat, contaminación y pesca), ya que la probabilidad de un individuo de utilizar una zona de crianza específica no es aleatoria y su capacidad de recuperación frente a extinciones locales es muy reducida. En las últimas décadas los tiburones han estado sometidos a la sobrepesca y se debilita el potencial reproductivo de especies filopátricas al mantener segregación de haplotipos entre áreas y al tener flujo genético restringido (Mourier y Planes, 2013), por lo cual determinar las zonas de reproducción y de crianza resulta crítico para garantizar su reclutamiento (Salomón-Aguilar *et al.*, 2009).

Las zonas de crianza se definen como aquellas áreas diferentes de las zonas reproductivas o de alimentación en las que las hembras grávidas dan a luz a sus crías, y se identifican por una alta densidad de estas hembras, neonatos y juveniles pequeños, usualmente del primer año. Estas áreas son utilizadas por largos periodos o repetidamente durante los años, y tienen condiciones que proporcionan a los individuos ventajas sobre otras regiones como disponibilidad de alimento y protección de depredadores, generando una mayor sobrevivencia de las crías (Castro, 1993; Feldheim *et al.*, 2014; Salomón-Aguilar *et al.*, 2009). Estas áreas coinciden en muchos casos con estuarios, donde la productividad y la disponibilidad de nutrientes es muy alta por la mezcla de agua dulce y salada, así como por el acarreo de sedimentos continentales, que a su vez proporcionan condiciones de turbidez permitiendo a juveniles permanecer ocultos de depredadores en el ambiente costero, situación que al no presentarse en el ambiente pelágico los hace más vulnerables (Heupel *et al.*, 2007; Simpfendorfer y Milward, 1993).

La importancia de los humedales como zonas de crianza desde una perspectiva de conservación radica en que en caso de que estas agregaciones de neonatos y juveniles en los primeros años de vida sean sujetas a captura comercial no logran ser reclutados a la población ni dejan descendencia. De la misma forma, la pérdida de la diversidad reproductiva y evolutiva por herencia materna en la filopatría, dada la segregación de

haplotipos previamente mencionada, resulta un aspecto a considerar relevante. Amplias regiones costeras han sido identificadas como zonas de crianza sólo por la densidad de juveniles observados. La problemática que implica es que no se logran identificar con precisión los sitios con mayor importancia biológica para la especie, siendo poco realista conservar regiones muy amplias, por lo que es preferible utilizar también los criterios de residencia y recurrencia mencionados anteriormente (Heupel *et al.*, 2007; Simpfendorfer y Milward, 1993).

Para establecer planes de manejo sustentables y garantizar la sobrevivencia de las especies es necesario entender la dinámica de las poblaciones a partir del grado de diferenciación genética y el grado de flujo génico entre ellas (Mourier y Planes, 2013). Esto es posible mediante el uso de marcadores moleculares basados en ADN, cuya elección influye en la capacidad para identificar poblaciones discretas en una escala determinada, ya que aquellos con bajas tasas mutacionales pueden reducir la probabilidad de detectar diferenciación a nivel poblacional o entre poblaciones adyacentes (Rubinoff, 2006). Las barreras geográficas también pueden generar estructura genética mas no debido a filopatría, por lo que resulta importante diferenciar entre ambos procesos, lo cual en general se hace utilizando marcadores moleculares nucleares y mitocondriales de forma simultánea (Chapman *et al.*, 2015; Hueter *et al.*, 2005).

Los marcadores nucleares y mitocondriales tienen distintos modos de herencia, siendo transmitidos de forma biparental en el primer caso y uniparental en el segundo (Green, 2014). Los marcadores nucleares suelen tener tasas mutacionales menores que los mitocondriales; además tienen un tamaño efectivo poblacional mayor y reflejan eventos vicariantes o cambios demográficos más lentamente, debido a que aunado a su herencia biparental existe recombinación y las diferencias se fijan más lentamente en el ADN (Bowen *et al.*, 2014). Dado que la filopatría en tiburones suele ocurrir de manera diferencial entre sexos, los marcadores nucleares pueden mostrar baja o nula estructura genética por los motivos previamente mencionados (Dudgeon *et al.*, 2012).

Los marcadores basados en ADN mitocondrial son una herramienta muy utilizada en biología de la conservación, ya que permiten identificar orígenes natales por herencia materna, conectividad entre zonas de crianza e inferir patrones de movimiento a través de la

identificación de haplotipos asociados a dichos sitios. Dado que el ADN mitocondrial se transmite por herencia uniparental, existe una fijación genética en caso de aislamiento reproductivo de manera más rápida y por mayor tiempo que en marcadores nucleares debido a un efecto mayor de la deriva génica, lo que permite identificar señales de divergencia poblacional por eventos históricos o contemporáneos con un tamaño efectivo menor (Avice, 2009; Dudgeon *et al.*, 2012).

Aunque las tasas mutacionales mitocondriales se caracterizan por ser altas, para tiburones se han reportado tasas de siete a ocho veces más lentas que en primates o ungulados (Martin *et al.*, 1992), así como una tasa de 0.8% por millón de años para la región control de *S. lewini* (Duncan *et al.*, 2006). De esta manera, utilizar pequeñas porciones del genoma puede en ocasiones, como es el caso de la filopatría, ser poco informativo. En contraparte, caracterizar la variación genética del genoma completo representa una ventaja sobre genes individuales al contar con un mayor número de sitios variables, brindando la posibilidad de tener una mayor precisión en las estimaciones de divergencia, un análisis estadístico más representativo del genoma, y una mayor resolución en estudios donde el número de individuos secuenciados es bajo, pudiendo determinar los procesos evolutivos que han moldeado la variación de los genomas en las poblaciones (Feutry *et al.*, 2014).

## **1.1 Marco teórico**

### *1.1.1 Aspectos biológicos y pesqueros de la especie*

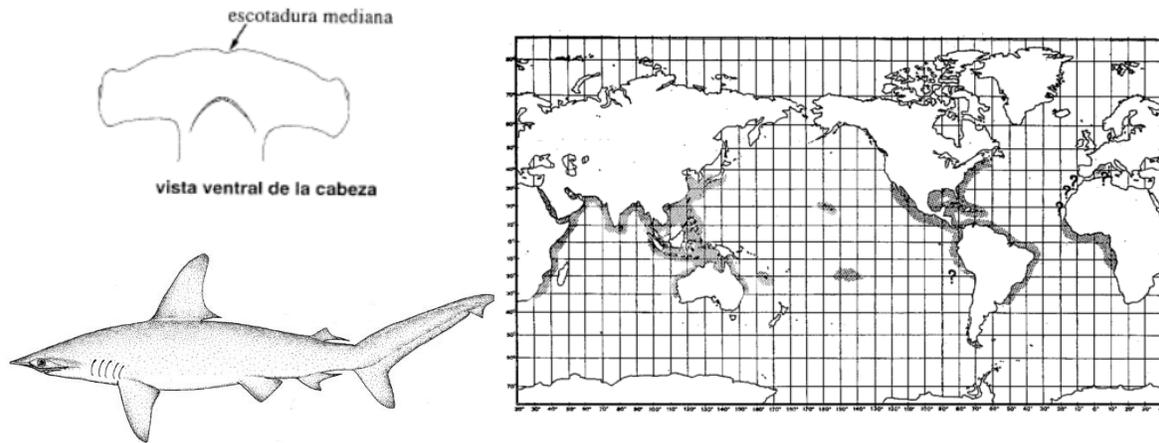
La clase Chondrichthyes es un grupo monofilético muy antiguo de gnatostomados que abarcan una amplia variedad de hábitats, formas, tamaños y estrategias de reproducción (Compagno, 1990). Comprende a los peces cartilagosos representados por tiburones, rayas y quimeras (Compagno, 1977; Nelson, 2006). Dicha clase está compuesta por 16 órdenes, 61 familias, 199 géneros y aproximadamente 1188 especies, de las cuales 509 son tiburones, 630 batoideos y 49 son quimeras (Weigmann, 2016).

La subclase Elasmobranchii se divide en dos grandes grupos: la subdivisión Batoidea que corresponde a las rayas, las cuales tienen el cuerpo aplanado dorso-ventralmente, los ojos y espiráculos en posición dorsal y las hendiduras branquiales, la boca y las narinas en

posición ventral; y la subdivisión Selachii que se refiere a los tiburones, los cuales tienen el cuerpo fusiforme exceptuando algunas especies aplanadas dorso-ventralmente, hendiduras branquiales laterales, ojos y espiráculos en caso de tener en la parte dorsal o lateral, y boca ventral o sub-terminal (Compagno, 1990; Fischer *et al.*, 1995; Heinicke *et al.*, 2009). De acuerdo al registro fósil y a estudios moleculares, los elasmobranquios evolucionaron de ancestros de placodermos durante el Silúrico pero fue hace aproximadamente 400 millones de años durante el Devónico que se diversificaron y fueron comunes (Moyle y Cech, 2004; Heinicke *et al.*, 2009).

La subdivisión Selachii está compuesta por nueve órdenes, 34 familias, 105 géneros y 509 especies. Los Carcharhiniformes son el orden más diverso, dentro del cual se encuentra la familia Sphyrnidae (Weigmann, 2016). Esta familia comprende a las cornudas o tiburones martillo, los cuales presentan una cabeza con expansiones laterales, por lo que los ojos se ubican en los bordes externos. Tienen párpados nictitantes inferiores bien desarrollados, dientes laminares con una sola cúspide, dos aletas dorsales y una aleta caudal fuertemente asimétrica. Se distribuyen en aguas superficiales de mares tropicales y templados (Fischer *et al.*, 1995; Gilbert, 1967). La familia Sphyrnidae es monofilética y está representada por dos géneros y ocho especies (Gilbert, 1967; Vélez-Zuazo y Agnarsson, 2011; Weigmann, 2016). En el Pacífico Mexicano está presente el género *Sphyrna* (Henle, 1834) con seis especies de las siete registradas mundialmente, las cuales son *S. corona*, *S. lewini*, *S. media*, *S. mokarran*, *S. tiburo* y *S. zygaena* (Lim *et al.*, 2010).

*Sphyrna lewini* (Griffith y Smith, 1834) tiene el borde anterior de la cabeza convexo con una escotadura pronunciada en la parte central y cuatro lóbulos bien definidos. Tiene una primera aleta dorsal grande y una segunda más pequeña, cuyo extremo posterior libre se ubica muy poco por delante del origen de la aleta caudal; la base de la aleta anal es más larga que la de la segunda aleta dorsal (Figura 1). También, tiene dientes anteriores rectos o ligeramente aserrados con cúspides moderadamente largas, mientras que los posteriores tienen coronas oblicuas; en juveniles predominan los dientes de bordes lisos, obteniendo los ligeramente aserrados en la edad adulta (Compagno, 1984; Fischer *et al.*, 1995; Gilbert, 1967; Hernandez Carvallo, 1967).



**Figura 1.** Vista lateral y ventral de *Sphyrna lewini* y área de distribución. Tomado de Fischer *et al.* (1995) y Compagno (1984)

Se trata de una especie circumglobal semioceánica que habita en aguas tropicales y subtropicales de los océanos Pacífico, Atlántico e Índico, esporádicamente por debajo de los 22°C (Castro, 1983, 2011; Klimley *et al.*, 1993) (Figura 1). En el Pacífico oriental se distribuye del sur de California hasta Ecuador y alcanzan profundidades de hasta 275 metros (Compagno, 1984; Fischer *et al.*, 1995) aunque se tiene un registro de inmersiones de hasta 1043 metros en la capa anóxica (Moore y Gates, 2015). Los juveniles en los primeros años de vida están confinados a aguas costeras y estuarios, migrando a zonas más profundas conforme se desarrollan (Coiraton *et al.*, 2017; Zarate Rustrián, 2010). Se caracterizan por formar grandes agregaciones en islas pequeñas y montes submarinos, realizando migraciones horizontales desde las zonas costeras hasta las pelágicas, las cuales pueden ser diarias o estacionales (Hearn *et al.*, 2010; Hoyos-Padilla *et al.*, 2014; Ketchum *et al.*, 2014; Klimley *et al.*, 1993).

*Sphyrna lewini* realiza migraciones diarias permaneciendo durante el día cerca de la costa y alejándose durante la noche para su alimentación, así como temporales, con una mayor permanencia cerca de la costa en verano. Existe una segregación por sexo cuando las hembras adultas llevan a cabo movimientos migratorios más extensos sobre todo entre marzo y mayo para las fases finales de gestación y para dar a luz a sus crías en zonas cercanas a la costa durante la temporada de lluvias, cuando la temperatura y disponibilidad

de alimento son mayores (Hoyos-Padilla *et al.*, 2014; Ketchum *et al.*, 2014; Klimley *et al.*, 1993).

Son depredadores generalistas y oportunistas cuya alimentación se basa principalmente en peces pelágicos, tiburones, rayas, calamares, langostas, camarones y cangrejos. Por otro lado, en cuanto a su estrategia reproductiva son organismos vivíparos que pueden producir de 15 a 30 embriones por camada cada año, teniendo un tiempo de gestación de entre nueve y doce meses (Castro, 1993, 2011; Compagno, 1984b). Al nacer, su talla es de 50 cm aproximadamente, considerándose neonatos aquellos organismos que presentan cicatriz umbilical (Castro, 1993) cuya longitud total va de 45 a 64 cm, mientras que los juveniles tienen una talla de 65 a 170 cm. Los adultos, con tallas promedio de 370 cm, llegan a vivir hasta 30 años, aunque no es común encontrar ejemplares mayores a 15 años. Los machos alcanzan la madurez sexual entre los 140 y 180 cm, mientras que las hembras entre los 180 y 212 cm (Compagno, 1984; Compagno *et al.*, 2005; Torres-Rojas *et al.*, 2004), a la edad aproximada de cinco y seis años, respectivamente (Anislado-Tolentino *et al.*, 2008) dependiendo de la región, ya que en Colombia incluso se ha reportado hasta los 10 años (Quintanilla *et al.*, 2015).

Los tiburones son depredadores tope en ambientes marinos; sin embargo, tienen una baja tasa de recuperación por disminución poblacional y una baja resiliencia a los cambios rápidos debido a su crecimiento lento, maduración sexual tardía, baja fecundidad y segregación por talla y sexo, lo que los hace vulnerables a la sobrepesca, a la cual están expuestos por ser un recurso pesquero importante a nivel mundial (Alejo Plata *et al.*, 2006; Furlong-Estrada *et al.*, 2015). La pesquería de elasmobranquios en México ocupó el quinto puesto a nivel mundial en 2012 con 24 de las 518 mil toneladas capturadas a nivel mundial (FAO, 2012; SAGARPA, 2013).

En el caso particular de *Sphyrna lewini*, es de las especies más capturadas por la pesquería artesanal y de mediana altura de tiburón en el país; representa el 31% de la captura total de tiburones en el océano Pacífico mexicano y Golfo de California (principalmente Sinaloa) (Bizzarro *et al.*, 2007; Gallegos-Camacho y Tovar-Ávila, 2011), el 28% de la captura en el Golfo de Tehuantepec (Soriano Velásquez *et al.*, 2006) y el 10% de la captura en el Golfo de México (Castillo-Olguín *et al.*, 2012). Los neonatos y juveniles suelen capturarse

recurrentemente por la pesca incidental de escama o por la pesquería de elasmobranquios en el Pacífico Mexicano, e incluso sustentan la pesquería en el Golfo de Tehuantepec (Anislado-Tolentino y Robinson-Mendoza, 2001; DOF, 2007; Pérez-Jiménez *et al.*, 2005). En el caso de Michoacán llegan a sostener hasta el 70% de la pesquería de elasmobranquios (Alejo Plata *et al.*, 2006).

Aunque en 1999 la Organización para la Alimentación y la Agricultura de las Naciones Unidas (FAO) consideró a esta especie con alto potencial de explotación por su abundancia, en 2007 se le incluyó en la Lista Roja de la IUCN (Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza) con el estatus de Peligro de Extinción a Nivel Mundial (Baum *et al.*, 2007). En el 2014 entró en el apéndice II de la Convención Internacional de Comercio de Especies Amenazadas de Fauna Silvestre y Flora (CITES), en el cual se encuentran especies no necesariamente en peligro de extinción, pero cuyo comercio debe controlarse para no afectar su supervivencia o para recuperar sus poblaciones.

En México, la NOM 029-PESC-2006 sobre la pesca de tiburón y rayas fue propuesta en el 2004 y entró en vigor en 2007, permitiendo la regulación de la pesquería de elasmobranquios, además de contribuir en la conservación y protección de estos organismos y otras especies capturadas incidentalmente. Esta norma introdujo la utilización de bitácoras, la categorización de especies, la presencia de observadores científicos en las embarcaciones de mediana altura y altura, restricciones temporales en las capturas y prohibición de capturas de especies vulnerables, aunque no limita el esfuerzo pesquero (Bizarro *et al.*, 2007).

En el Pacífico Mexicano, la veda para todas las especies de tiburón comprende del 1° de mayo al 31 de julio (DOF, 2012), mientras que para el Golfo de México y Mar Caribe se maneja del 1° de mayo al 30 de junio, excepto en banco Campeche donde se aplica del 15 de mayo al 15 de junio y durante el mes de agosto (DOF, 2014). Sin embargo, su manejo no ha sido eficiente por la falta de información oficial confiable; se desconoce la mortalidad real por la pesca debido a problemas de identificación adecuada de especies mientras los registros gubernamentales sólo consideran las categorías de rayas, tiburones y cazones (aquellos tiburones con una longitud total menor a 150 cm), registros deficientes en la

captura reportada o incluso capturas sin registrar sobre todo en la pesca incidental (Camhi *et al.*, 2009; Ramírez-Amaro *et al.*, 2013).

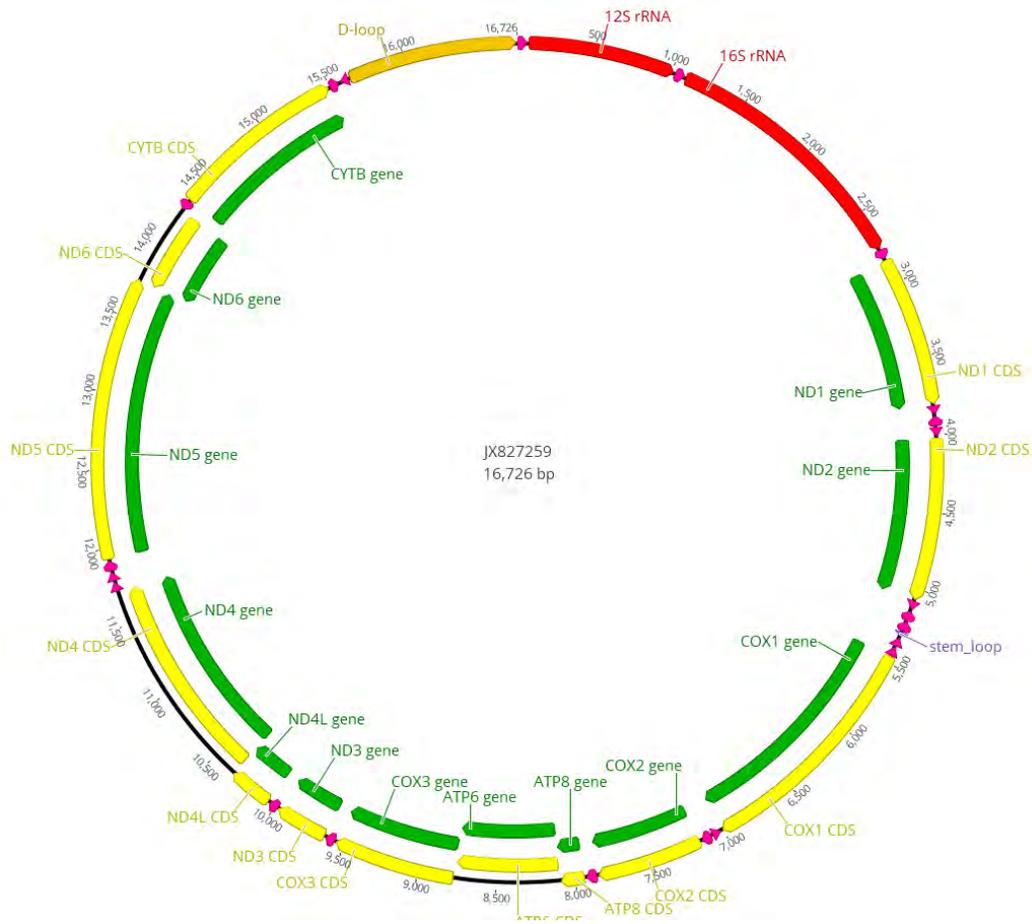
Es necesario aplicar medidas específicas para cada especie o grupo de especies, debido a la gran variedad de ciclos de vida que presentan a nivel local y regional, para así lograr mitigar los efectos que las actividades productivas tienen en estos organismos (SICA-OSPESCA, 2005). Además, el carácter multiespecífico de las pesquerías y el uso de distintas artes de pesca dificulta el diseño y la aplicación de los instrumentos de manejo (Alejo Plata *et al.*, 2006).

### 1.1.2 ADN mitocondrial

El ADN mitocondrial es una estructura circular que se presenta en doble cadena. Es un marcador molecular muy útil y popular en estudios filogeográficos y filogenéticos; en el primer caso es muy útil para definir la estructura genética poblacional como resultado de barreras al flujo genético históricos y estudiar procesos demográficos históricos al no haber recombinación, tener un tamaño compacto y estar muy conservado dado que está implicado en procesos metabólicos básicos. Al ser transmitido por vía materna, ofrece una ventaja al mostrar las conductas reproductivas de las hembras que son de gran importancia en la supervivencia (Eckert *et al.*, 2000; Galtier *et al.*, 2009). Las variantes son llamadas haplotipos, cuya distribución dentro y entre poblaciones revela información sobre la estructura del linaje de las hembras. Está organizado en 37 genes que corresponden a dos subunidades de rRNA, 22 tRNA y 13 genes que codifican para proteínas. También está conformado por porciones no codificantes entre los genes, siendo la región control o D-loop la única porción significativa (Moretti, 2014).

En el caso particular del genoma mitocondrial de *Sphyrna lewini* (Figura 2), consta de 16726 pb, con una composición general de 31.4% A, 26.3% C, 13.2% G and 29.1% T. La subunidad 12S de rRNA es de 956 pb y la 16S de 1669 pb, los cuales codifican para las subunidades ribosomales relacionadas con el ensamblaje de proteínas. Los 22 tRNA codifican para un aminoácido específico, excepto leucina y serina, los cuales poseen dos copias de tRNA para cada uno, cuentan con 65 a 75 pb y son usados para traducción de los RNA mensajeros mitocondriales (Chen *et al.*, 2015; Moretti, 2014). Las proteínas

codificadas por el ADN mitocondrial son utilizadas en la cadena respiratoria para producir energía en forma de ATP a través del transporte de electrones por medio de tres subunidades del complejo Citocromo C oxidasa (COX1, COX2, COX3), dos subunidades de la ATPasa (ATP6 y ATP8), el complejo NADH deshidrogenasa (ND1, ND2, ND3, ND4L, ND5, ND6) y una subunidad del complejo Citocromo C reductasa (CYTB). La región control está relacionada con la replicación y transcripción mitocondrial controlada por el núcleo (Moretti, 2014).



**Figura 2.** ADN mitocondrial de *Sphyrna lewini*

La tasa mutacional del ADN mitocondrial estipulada para vertebrados es de 2% por millón de años, aunque esta fue calculada para primates (Brown *et al.*, 1979), siendo recomendable utilizar calibraciones específicas para los distintos taxa (Galtier *et al.*, 2009). Para tiburones, se han reportado tasas de siete a ocho veces más lentas que en primates o

ungulados (Martin *et al.*, 1992), así como una tasa de 0.8% por millón de años para la región control de *S. lewini* (Duncan *et al.*, 2006).

## 1.2 Antecedentes

En elasmobranquios y particularmente tiburones, los patrones de genética de poblaciones varían entre especies debido a una amplia variedad de historias de vida. En cuanto a estudios filogeográficos, el orden Carcharhiniformes es el mayor representado dado que muchas especies son de importancia comercial (Dudgeon *et al.*, 2012). El grado de diferenciación genética depende de la vagilidad, preferencias de hábitat, sensibilidad a cambios naturales y antropogénicos, hábitos alimenticios y reproductivos de los organismos (Dudgeon *et al.*, 2012; Spaet *et al.*, 2015).

Especies con alta dispersión y sin aislamiento poblacional por barreras oceánicas han mostrado más estructura poblacional de lo esperado (Heist, 2004) debido a que son propensos a mostrar fidelidad hacia zonas de crianza, lo que se conoce como comportamiento filopátrico, que en tiburones sucede mayoritariamente en hembras (Duncan *et al.*, 2006; Feutry *et al.*, 2014). La genética se ha utilizado para detectar filopatría natal en una gran cantidad de organismos, dentro de los cuales se encuentran peces óseos, aves, tortugas y mamíferos en el ámbito marino (Feldheim *et al.*, 2014; Hueter *et al.*, 2005) mediante la utilización de marcadores mitocondriales y nucleares (Mourier y Planes, 2013).

Estudios recientes han evaluado los niveles de divergencia poblacional y flujo génico, los tamaños poblacionales y los procesos demográficos de *S. lewini* en diferentes regiones del mundo. Chapman *et al.* (2009) obtuvieron una marcada estructura genética en el Atlántico occidental debido a filopatría regional. Por su parte, Nance *et al.* (2011) analizaron los patrones de demografía histórica y la estructura genético-poblacional de *S. lewini* en el Pacífico oriental, obteniendo diferencias significativas entre las localidades del Pacífico mexicano y del Ecuador, así como una reciente reducción de los tamaños poblacionales en ambas áreas debido a las pesquerías. Castillo-Olgún *et al.* (2012) no reportaron divergencia genética entre localidades del Pacífico mexicano con base en la región control, mientras

que Spaet *et al.* (2015) tampoco encontraron divergencia genética dentro del Océano Indico, sólo entre cuencas oceánicas.

A escala global destacan tres estudios relacionados con la filopatría en tiburones. En el caso de *S. lewini* existen dos estudios; en el primero de ellos Duncan *et al.* (2006) realizaron un estudio filogeográfico utilizando la región control del ADN mitocondrial con un tamaño de muestra menor al de Chapman *et al.* (2009), habiendo diferencias genéticas entre cuencas oceánicas mas no entre localidades de la misma línea de costa debido a una alta conectividad, sin encontrar evidencias de filopatría pero sin descartarla. Esto resalta la necesidad de realizar estudios tanto regionales como globales utilizando diferentes marcadores (Kuguru, 2017). Por su parte, Daly-Engel *et al.* (2012) determinaron no sólo que la dispersión y el flujo génico mediado por machos ha facilitado la conectividad existente en *S. lewini* a nivel global, sino que la estructura genética que presentan los marcadores mitocondriales se deben a la preferencia que las hembras tienen por ambientes costeros para dar a luz a sus crías y por ende a la filopatría. Por otro lado, Keeney y Heist (2006) encontraron en *Carcharhinus limbatus* estructura genética entre el Atlántico oriental y el Indo-Pacífico debido a filopatría, aún cuando la especie tiene una gran vagilidad.

Las escalas a las que se ha demostrado estructura genética por filopatría en elasmobranquios han sido variables; en el caso de especies pelágicas como el tiburón mako *Isurus oxyrinchus* (Schrey y Heist, 2003) y el tiburón blanco *Carcharodon carcharias* (Jorgensen *et al.*, 2009) se reportan en escalas regionales. No obstante, la filopatría ha resultado en escalas geográficas más pequeñas en especies costeras como el tiburón toro *Carcharhinus leucas* (Tillett *et al.*, 2012), el tiburón limón *Negaprion brevirostris* (Feldheim *et al.*, 2014, 2004), *S. tiburo* (Portnoy *et al.*, 2015), el tiburón puntas negras *Carcharhinus limbatus* y *Carcharhinus melanopterus* (Hueter *et al.*, 2005; Mourier y Planes, 2013). Los estudios han usado métodos de rastreo, telemetría y estudios genéticos con marcadores nucleares y mitocondriales. Solamente existen dos estudios que hayan estudiado filopatría utilizando el genoma mitocondrial completo, lo cual facilitó identificarla como filopatría específica a una escala geográfica menor, tanto para el tiburón lanza *Glyphis glyphis* (Feutry *et al.*, 2014) como para *Pristis pristis* (Feutry *et al.*, 2015).

A partir de la importancia de conocer los sitios con importancia reproductiva para los organismos, se han identificado regiones de alumbramiento y crianza de *S. lewini* en el Pacífico central oriental, principalmente en la boca del golfo de California y en el golfo de Tehuantepec.

En Sinaloa, tanto hembras como machos adultos de esta especie pasan la mayor parte de su vida en alta mar; las hembras adultas se desplazan a zonas profundas donde se alimentan de presas pelágicas, lo que provoca un crecimiento más rápido. Eventualmente se desplazan a la costa para el alumbramiento entre mayo y julio, donde su abundancia junto con la de organismos inmaduros es mayor (Anislado-Tolentino y Robinson-Mendoza, 2001; Coiraton *et al.*, 2017; Torres-Huerta *et al.*, 2008; Zarate Rustrián, 2010). En el caso de Jalisco, neonatos y juveniles predominan durante la época de lluvias entre junio y agosto (Corgos *et al.*, 2016a), aunque aparecen desde mayo hasta enero frente a las bocas de los ríos (A. Corgos, comunicación personal, 2018). De manera similar, en el Golfo de Tehuantepec, se ha reportado abundancia de hembras preñadas y juveniles de la especie entre mayo y agosto, lo cual sugiere que puede ser considerado como una zona de crianza durante la época de lluvias (Alejo Plata *et al.*, 2006; Bejarano-Álvarez, 2007).

La presencia de organismos inmaduros en los primeros años de vida a lo largo del área de estudio coincide con regiones donde los estuarios, bahías o manglares son abundantes, siendo capturados de manera consistente en zonas someras con profundidades máximas de 40 metros a menos de 27 km de la línea de costa. Estos ambientes costeros se caracterizan por tener aguas turbias y altamente productivas, brindando a los neonatos y juveniles pequeños protección contra los depredadores y disponibilidad de alimento durante periodos extensos (Anislado-Tolentino y Robinson-Mendoza, 2001; Rosende Pereiro y Corgos, 2018; Torres-Huerta *et al.*, 2008). Sin embargo, pueden verse afectados por cambios naturales o antropogénicos cuya magnitud depende de la ubicación y ecología de los distintos estuarios (Kennish, 2005).

El cambio climático incide en los estuarios tras el aumento del nivel del mar y la temperatura superficial, la acidificación del océano, y los cambios en la intensidad de las lluvias y vientos (Glamore *et al.*, 2016). Por otro lado, estos ecosistemas se ven afectados

por el hombre como resultado de la contaminación, la alteración o pérdida del hábitat, la eutrofización, la introducción de especies y la sobrepesca (Kennish, 2005).

*S. lewini* es de las especies más capturadas por pesca artesanal a lo largo del Pacífico mexicano. En Sinaloa y Nayarit predominan capturas de juveniles para *S. lewini*, y de adultos y juveniles preadultos para *Carcharhinus falciformis* (Furlong-Estrada *et al.*, 2015), mientras que la captura artesanal del Golfo de Tehuantepec está sustentada principalmente por organismos inmaduros de *C. falciformis* y de *S. lewini* (Soriano Velásquez *et al.*, 2006).

Mientras las condiciones ambientales permanecen estables, la filopatría puede incrementar la probabilidad de que neonatos y juveniles se desarrollen en condiciones adecuadas, incrementando sus probabilidades de sobrevivencia. En cambio, este comportamiento también puede poner en riesgo a las poblaciones tras alteraciones desfavorables de las condiciones en las áreas de crianza, ya que independientemente de su capacidad de dispersión las hembras regresarían al mismo sitio donde nacieron años atrás para dar a luz a sus crías (Hueter *et al.*, 2005; Mourier y Planes, 2013). Por lo anterior y debido a la segregación de linajes maternos específicos por generaciones para cada área, representan bagaje genético particular. De esta manera, las probabilidades de recuperación de poblaciones frente a extinciones locales por impactos específicos como la sobrepesca son más remotas que en otras especies donde los organismos pueden ser reclutados de distintas áreas, no sólo de sitios específicos, lo que debilita el potencial reproductivo de la especie (Salomón-Aguilar *et al.*, 2009; Yates *et al.*, 2012).

Por ende, la filopatría debe ser considerada para las estrategias de conservación debido a que el potencial de generación y mantenimiento de la diversidad genética de una población depende directamente de su biomasa reproductiva y de su capacidad para generar descendencia, sobre todo para especies de lenta maduración con bajos niveles de diversidad genética de su ADN mitocondrial, como los carcarínidos (Domeier, 2012; Feldheim *et al.*, 2014).

Las poblaciones de tiburones martillo han disminuido considerablemente, tanto a nivel mundial como en México (Hoyos-Padilla *et al.*, 2014; Pérez-Jiménez, 2014) y sus

adaptaciones tan especializadas los hacen todavía más vulnerables (Gallagher *et al.*, 2014). El uso de marcadores mitocondriales puede dar información primaria sobre las poblaciones de *S. lewini* en el Pacífico central oriental y contribuir al diseño de estrategias de conservación para lograr la sustentabilidad pesquera de la especie (Castillo-Olgún *et al.*, 2012).

### **1.3 Hipótesis**

Los reportes de abundancia de neonatos y juveniles pequeños de *S. lewini* en estuarios de las costas del Pacífico mexicano, así como los reportes frecuentes de filopatría en tiburones, hace posible esperar que la especie utilice los estuarios como zona de crianza y que exista divergencia genética al comparar el ADN mitocondrial entre los individuos de diferentes estuarios.

### **1.4 Objetivos**

Caracterizar la diversidad genética del genoma mitocondrial del tiburón martillo *Sphyrna lewini* en estuarios del Pacífico mexicano y determinar si ésta muestra evidencia de filopatría natal.

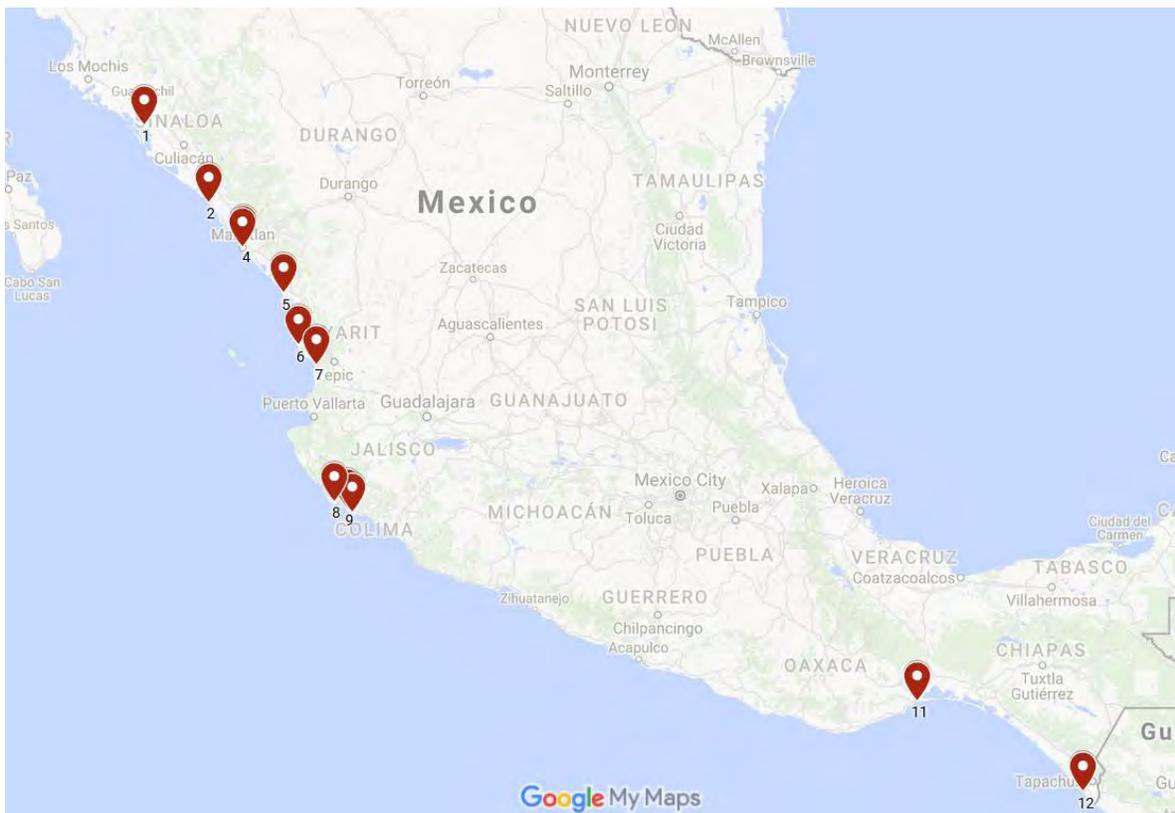
En tanto que los objetivos particulares son los siguientes:

- Determinar el número y la frecuencia de los haplotipos en cada zona de crianza.
- Estimar el nivel de divergencia poblacional de los genomas mitocondriales entre las diferentes zonas de crianza.
- Evaluar el grado de conectividad genética entre las zonas de crianza y determinar si cada una de estas contiene linajes maternos específicos o compartidos para las poblaciones en conjunto.
- Determinar si las diferencias genéticas por filopatría ocurren a nivel regional o hacia zonas de crianza específicas.

## II. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1 Área de estudio

Las pesquerías más importantes de tiburón martillo en México se desarrollan en el sur del Golfo de California y en el Golfo de Tehuantepec, que a su vez corresponden a las principales zonas de crianza de la especie (DOF, 2012). Las localidades muestreadas (Figura 3) corresponden a estuarios y bahías reportadas con alta abundancia de neonatos y juveniles pequeños en la boca del Golfo de California (Coiraton *et al.*, 2017; Furlong-Estrada *et al.*, 2015; Salomón-Aguilar *et al.*, 2009) y en el Golfo de Tehuantepec (Alejo Plata *et al.*, 2006), con organismos de los estados de Sinaloa, Nayarit, Oaxaca y Chiapas. Jalisco también se consideró debido a los recientes reportes de la existencia de posibles zonas de crianza para *S. lewini* (Rosende Pereiro y Corgos, 2018) y para evaluar una posible transición entre las dos regiones mencionadas.



**Figura 3.** Área de estudio y sitios de muestreo: (1) La Reforma, (2) Verde Camacho, (3) Chametla, (4) Las Cabras, (5) Teacapán, (6) Boca de Camichín, (7) Punta Santa Cruz, (8) Rebalcito, (9) Barra de Navidad, (10) Marabasco, (11) Chipehua, (12) Puerto Madero

Para el estado de Sinaloa se consideraron las localidades de La Reforma, Verde Camacho, Las Cabras, Chametla y Teacapán, que abarcan la zona centro-sur del estado. La Reforma se encuentra en el municipio de Angostura, que corresponde a la parte central de Sinaloa. En la parte sur se ubican las localidades Verde Camacho, dentro del municipio de Mazatlán; Chametla en el municipio de Rosario; y Las Cabras y Teacapán en el municipio de Escuinapa. Teacapán se encuentra en la desembocadura del río Cañas. De acuerdo con la NOM-029-PESC-2006, la pesca no está permitida alrededor de las localidades de La Reforma y Teacapán ya que forman parte de las zonas de crianza establecidas para elasmobranchios, así como tampoco en Verde Camacho que corresponde a un área de anidamiento de tortugas (CONANP, 2012; DOF, 2007).

En el caso de Nayarit, se contemplaron las localidades de Boca de Camichín y Punta Santa Cruz, la primera de las cuales se encuentra en la desembocadura del río San Pedro y en el municipio de Santiago Ixcuintla, mientras que Punta Santa Cruz se localiza en el municipio de San Blas.

Las localidades correspondientes al estado de Jalisco se encuentran en la región Costa Sur y fueron Rebalsito, Bahía de Navidad y Marabasco. Rebalsito se ubica cerca de la Bahía de Tenacatita en la desembocadura del río Purificación en el municipio La Huerta, el cual colinda al este y sureste con Cihuatlán que contiene a las localidades de Bahía Navidad y Marabasco, esta última en el límite con Colima, con el cual comparte la desembocadura del río Marabasco.

Para el estado de Oaxaca se muestreó Chipehua, dentro del municipio Santo Domingo Tehuantepec. Finalmente, en Chiapas se consideró Puerto Madero, actualmente denominado Puerto Chiapas, que se encuentra en la Región del Soconusco al sur del estado y en el municipio de Tapachula.

Las coordenadas geográficas de cada una de las localidades se presentan en la Tabla I. Estas localidades fueron consideradas al tener una alta concentración de neonatos y juveniles pequeños del primer año, además de que corresponden a estuarios y bahías similares a otras áreas utilizadas por *S. lewini* y reportadas como áreas de crianza en otras partes mundo (Castro, 1993; Simpfendorfer y Milward, 1993).

**Tabla I.** Coordenadas geográficas de las localidades muestreadas

Estado	Localidad	Coordenadas geográficas
Sinaloa	La Reforma	25° 02' 42" N y 108° 04' 34" O
	Verde Camacho	23° 24' 29" N y 106° 32' 14" O
	Chametla	22° 49' 53" N y 106° 02' 02" O
	Las Cabras	22° 43' 33" N y 105° 53' 28" O
	Teacapán	22° 32' 30" N y 105° 45' 52" O
Nayarit	Boca de Camichín	21° 44' 29" N y 105° 29' 55" O
	Punta Santa Cruz	21° 26' 54" N y 105° 11' 28" O
Jalisco	Rebalsito	19° 17' 47" N y 104° 54' 26" O
	Bahía de Navidad	19° 12' 43" N y 104° 41' 44" O
	Marabasco	19° 10' 00" N y 104° 37' 59" O
Oaxaca	Chipehua	16° 03' 28" N y 95° 22' 12" O
Chiapas	Puerto Madero	14° 41' 49" N y 92° 24' 39" O

### 2.1.1 Clima

El estado de Sinaloa en la parte costera cuenta con un clima cálido semiseco con el subtipo más húmedo del semiseco ( $BS_1$ ), presentando un régimen de lluvias en verano hasta el límite con Nayarit, donde el clima es cálido subhúmedo con el subtipo menos húmedo ( $Aw_0$ ) (Vidal Zepeda, 2005).

Con respecto a la Costa Sur de Jalisco, las zonas costeras por debajo de los 700 m.s.n.m mantienen un clima cálido con el subtipo menos húmedo de los subhúmedos ( $Aw_0$ ) con estación seca en invierno y lluvias en verano, siendo febrero el mes con menos precipitación y septiembre el más lluvioso. La temporada cálida se presenta de junio a octubre con temperaturas promedio de 31.4°C, y la fría de noviembre a marzo con promedio de 22.3°C (García-Oliva *et al.*, 1991, 1995).

La región del Golfo de Tehuantepec que abarca Oaxaca y Chiapas también se caracteriza por un clima cálido subhúmedo con el subtipo más seco, con la diferencia que presenta canícula e isoterma, con una marcha de temperatura tipo Ganges ( $Aw''_0(w)ig$ ). La temperatura promedio superficial es de 25 a 30°C en condiciones normales (Ramos-Cruz, 2009; Vidal Zepeda, 2005). Se distingue una temporada de lluvias y una de secas, que en el

caso de Oaxaca se caracteriza por los vientos tehuanos, que son un fenómeno a gran escala que por las características topográficas de la región genera una importante surgencia en la costa (Tapia-García *et al.*, 2007)

### 2.1.2 Dinámica litoral

Existen variaciones en los patrones de corrientes durante el año que determinan en gran medida las temperaturas superficiales del océano, los flujos de humedad hacia la atmósfera y el clima costero.

De acuerdo a la clasificación, en función de la topografía del fondo propuesta por Rusnak *et al.* (1964), Sinaloa y Nayarit forman parte de la boca del golfo cuya parte oriental se caracteriza por la gran cantidad de humedales interconectados que existen, sobre todo lagunas costeras, muchos de los cuales son hipersalinos (de la Lanza Espino *et al.*, 2013). Los estuarios y ambientes costeros son ecosistemas clave para la especie al ser utilizados como zonas de crianza (Carrera-Fernández, 2011). En esta región entran en contacto masas de agua salada y dulce por la desembocadura de ríos y arroyos estacionales, que generan frentes termohalinos importantes a lo largo del año (Amezcuca *et al.*, 2006; Arzola-González y Flores-Campaña, 2008). También, es una región con alta productividad durante todo el año debido a la presencia de mezcla de marea y surgencias (Bizzarro *et al.*, 2007). Con respecto a las corrientes, esta región muestra una gran estacionalidad y se ve influenciada mayoritariamente por la Corriente de California fría y rica en nutrientes, excepto durante el verano donde esta se debilita y la Corriente Norecuatorial fluye hacia las costas hasta Nayarit, donde converge con la Corriente de California y forma la Contracorriente Ecuatorial que se desplaza de manera subsuperficial hacia la zona oceánica (Kessler, 2006; Trasviña *et al.*, 1999).

La Costa Sur de Jalisco se caracteriza por la presencia de caletas y bahías delimitadas por zonas rocosas y acantilados, con grandes playas de alta energía interrumpidas por la desembocadura de los ríos Purificación y Marabasco (Corgos *et al.*, 2016a), con un régimen de marea semidiurna y una dinámica oceánica compleja (Filonov *et al.*, 2000). La región del Pacífico central mexicano se considera una zona de transición debido a la influencia

temporal de masas de agua fría del norte por la Corriente de California, así como de aguas cálidas del sur por la Corriente Costera de Costa Rica y la Contracorriente Norecuatorial. En consecuencia, se identifican tres patrones estacionales diferenciados: mezclado, semimezclado y estratificado (Kozak *et al.*, 2014). El primero se presenta en primavera, con un decremento en la temperatura del agua y aumento de nutrientes debido a la influencia de la corriente de California, e importantes afloramientos costeros por el patrón de vientos estacional (Kessler, 2006; Pérez-Jiménez *et al.*, 2005). El periodo estratificado se presenta gran parte del verano y en otoño, con condiciones tropicales debido a la influencia de la Contracorriente Norecuatorial y la época de lluvias donde la temperatura es alta. Finalmente el periodo semimezclado se considera de transición y abarca gran parte del invierno y en junio (Corgos *et al.*, 2016a; Kessler, 2006; Kozak *et al.*, 2014).

El Golfo de Tehuantepec se ubica en el sureste de México y se divide en dos principales subsistemas: el oaxaqueño, que se caracteriza por las surgencias que producen valores bajos de temperatura, oxígeno disuelto y altas concentraciones de nutrientes, y el chiapaneco que tiene una fuerte influencia de lagunas costeras y ríos que descargan más de 1,500 millones de m<sup>3</sup> de agua al año (Tapia-García *et al.*, 2007). Si bien los humedales del Golfo de Tehuantepec son de menores dimensiones a los de la boca del Golfo de California, aportan una gran cantidad de nutrientes condicionando la productividad pesquera hacia áreas costeras adyacentes (de la Lanza Espino *et al.*, 2013). Chipehua se encuentra a 20 km de Salina Cruz, con quien comparte el área de pesca artesanal (Zarate Rustrián, 2010), y ambas han sido propuestas por Bejarano-Álvarez (2007) y Carrera-Fernández (2011) respectivamente como posibles zonas de crianza debido a las altas concentraciones de neonatos, juveniles pequeños y hembras grávidas. Se considera un mar tropical dado que la influencia de la Corriente de California es mínima (Wilkinson *et al.*, 2009). Durante el otoño la Corriente Costera de Costa Rica cálida y pobre en nutrientes converge con la Corriente Norecuatorial entre los estados de Jalisco y Chiapas (Kessler, 2006); no obstante los nutrientes abundan debido a las surgencias y a las descargas previamente mencionadas.

## 2.2 Diseño de muestreo

### 2.2.1 Recolección de muestras

Los tiburones analizados para el presente estudio (neonatos y juveniles pequeños de hasta 99 cm) provinieron de la captura comercial obtenida entre 2013 y 2016 por las pesquerías artesanales y de altura del Pacífico mexicano. Las colectas de todos los estados se realizaron principalmente en las temporadas antes y/o después del periodo de veda, aunque en caso de Jalisco también durante el verano. Las colectas de Sinaloa se realizaron en otoño-invierno de 2014, primavera-verano-otoño de 2015 y otoño-invierno 2016. Las correspondientes a Nayarit se realizaron en otoño de 2014 y otoño-invierno de 2015. Las colectas de Jalisco se realizaron durante otoño-invierno de 2013, primavera-verano de 2014, primavera-verano-otoño-invierno de 2015 y primavera-invierno de 2016. Las colectas de Oaxaca y Chiapas se realizaron durante otoño de 2014 y primavera de 2015.

El ADN se obtuvo a partir de muestras de tejido de la primera aleta caudal o del músculo adyacente a las vértebras de *S. lewini*. Para cada muestra se registró localidad, longitud total, peso, sexo y arte de pesca. La cimbra se utiliza para la pesca de tiburones grandes en las zonas más profundas, mientras que tallas menores se capturan en zonas más someras con redes de enmalle, agalleras y palangre (Soriano Velásquez *et al.*, 2006; Zarate Rustrián, 2010).

En algunos casos se registró solamente la longitud interdorsal, a partir de la cual se estimó la longitud total utilizando la fórmula generada para organismos inmaduros de la especie por Gallegos-Camacho y Tovar-Ávila (2011), la cual se muestra a continuación:

$$L_t = 3.402L_i + 16.327 \quad (1)$$

donde  $L_t$  corresponde a la longitud total, que abarca de la punta del hocico al final de la cola extendida en el eje del cuerpo, y  $L_i$  a la longitud interdorsal, del final de la base de la primera aleta dorsal al inicio de la base de la segunda aleta dorsal.

Se secuenciaron 198 neonatos y juveniles de *S. lewini*, tanto por localidad como por estado y región. Se consideraron neonatos aquellos con marca umbilical y con una  $L_t$  de 45 a 64 cm, mientras que los juveniles tuvieron una  $L_t$  de 65 a 99 cm. Las muestras se preservaron en alcohol al 70%. Una vez en el laboratorio se congelaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su preparación para los análisis genéticos.

### 2.2.2 Extracción del ADN mitocondrial

De dichas muestras se extrajo ADN de alta calidad mediante el protocolo fenol-cloroformo modificado de Barker (1998) para el cual se digirió el tejido a  $37^{\circ}\text{C}$  por 24 horas con buffer de lisis que contiene EDTA como sustancia quelante, 1:8 de SDS al 10% para lisar las células y 1:25 de proteinasa K para digerir proteínas y eliminar nucleasas o contaminantes que puedan degradar el ADN.

Una vez digerido el tejido se agregó un volumen 1:1 de fenol a cada tubo para eliminar nucleasas, invirtiendo los tubos hasta que las dos fases estuvieran mezcladas y centrifugando durante 4 minutos. La fase acuosa se transfirió a un nuevo tubo, adicionándole 1:1 de PCI para desnaturalizar proteínas, lípidos y las nucleasas restantes. De nuevo se invirtieron los tubos para mezclar las fases y se centrifugaron 4 minutos, transfiriendo el sobrenadante que contiene el ADN y las proteínas precipitadas a tubos nuevos, a los cuales se agregó 1:1 de CI para remover las proteínas y lípidos.

Tras centrifugarse durante 4 minutos, se separó el sobrenadante en un nuevo tubo al cual se adicionó 1:10 de NaCl y 4:1 de etanol absoluto frío. Los tubos se invirtieron y se mantuvieron en el congelador durante 2 horas, tras las cuales se centrifugaron durante 20 minutos. Posteriormente, se desechó el sobrenadante sin perder el pellet, al cual se le agregaron 200  $\mu\text{L}$  de etanol al 70%, se centrifugaron durante 5 minutos y se retiró el etanol. Para evaporar cualquier resto de etanol, los tubos abiertos se centrifugaron con calor y al vacío durante 10 minutos y finalmente se resuspendió cada tubo en 50  $\mu\text{L}$  de buffer TE que contiene EDTA.

Una vez extraído, se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 1.5% para visualizar el peso molecular del ADN y su grado de degradación; también se cuantificó con el

NanoDrop 2000™ de ThermoFisher SCIENTIFIC. Posteriormente se procedió a preparar las muestras en una disolución 1:3 de ADN y buffer TE para la fragmentación por sonicación mediante los aparatos Bioruptor pico® de Diagenode y Minichiller® de Huber para el enfriamiento del agua en ciclos de 30 segundos con sonido y 30 segundos sin sonido. El número de ciclos dependió del estado de conservación del ADN, usando diez ciclos para el ADN no degradado y cinco ciclos para el degradado. El producto de sonicación se visualizó en un gel de agarosa al 1.5% mediante GelRed, seleccionando sólo aquellas muestras con más de 150 pb para las librerías.

Previo a la realización de las librerías de las muestras degradadas se realizó una limpieza con perlas magnéticas a 20µL de ADN, adicionando 1:1.5 de buffer TE y 1:3 de perlas magnéticas, lo cual se agitó en un vórtex y se centrifugó, dejando reposar las muestras durante 5 minutos para que el ADN se adhiriera a las perlas. Posteriormente los tubos se colocaron sobre el magneto 20 minutos, el sobrenadante fue eliminado y se adicionó etanol al 80% en una proporción de 1:4 del volumen de ADN inicial, el cual se removió para rehidratar con 25 µL de buffer TE y recuperar el volumen sobre el imán. Durante este proceso se elimina el ADN de mala calidad, así como restos de proteínas y ARN.

### *2.2.3 Genotipificación del ADN mitocondrial*

Se utilizó el protocolo de librerías Kapa para realizar las bibliotecas genómicas, con algunas modificaciones en los volúmenes de las reacciones. Este protocolo no requiere de enzimas de restricción y consta de una fase de reparación de extremos en la cual quedan extremos 5' fosforilados y a la vez se agregan nucleótidos poliA en 3' para que se unan los adaptadores universales complementarios en la fase de ligación. Posteriormente se eliminan los adaptadores sobrantes junto con los fragmentos muy grandes o muy pequeños por selección dual con una proporción de perlas magnéticas con respecto al producto pre-PCR menor y mayor respectivamente. Posteriormente se procede con el PCR, donde los fragmentos se amplifican usando como iniciadores la secuencia del adaptador ligado. Las distintas fases de la amplificación a detalle aparecen en la Tabla II.

**Tabla II.** Programa del termociclador para la amplificación de los fragmentos del genoma mitocondrial

Desnaturalización inicial	98°C	-	45 segundos	
Desnaturalización	98°C	-	15 segundos	} 15 ciclos
Hibridación	60°C	-	30 segundos	
Extensión	72°C	-	30 segundos	
Extensión final	72°C	-	60 segundos	
Finalización	4°C	-	$\infty$	

Para este protocolo se utilizaron los reactivos del Kit Kapa Hyper Prep de la marca KAPA BIOSYSTEMS, y un termociclador de gradiente de última generación Modelo T100 Touch™ de 96 pozos marca Bio-Rad. Una vez amplificados los fragmentos del ADN mitocondrial, se realizó una selección de tamaño para dejar solamente fragmentos de alta calidad de entre 150 y 300 pb para la secuenciación, los cuales finalmente fueron visualizados en geles de agarosa al 1.5%.

En caso de amplificarse adecuadamente se cuantificaron 20 ng/ $\mu$ L utilizando el fluorómetro Qubit™ 3 de Invitrogen, que utiliza colorantes fluorescentes específicos para las moléculas objetivo, evitando la sobreestimación de la lectura de ADN en este caso y siendo más sensible que la absorbancia UV, sobre todo para concentraciones bajas.

Posteriormente, los productos se secuenciaron mediante la plataforma Illumina® HiSeq 3000 con el kit para 300 ciclos. Es una plataforma basada en la secuenciación por síntesis, la cual genera lecturas pequeñas de hasta 200 pares de bases pero de manera simultánea, lo cual asegura la obtención de miles de pequeñas secuencias en pocos días. Se basa en el principio de amplificación en puente y en la utilización de marcaje por fluorescencia de nucleótidos modificados como terminadores reversibles (Metzker, 2010). Cada muestra es reconocida a partir de una combinación única de primers iTru5 e iTru7 adicionados previo a la amplificación.

Finalmente, las lecturas se ensamblaron con una sensibilidad baja o media, y se editaron mediante el programa Geneious 9.1.5 de Biomatters (Kearse *et al.*, 2012) utilizando el genoma mitocondrial de referencia de *S. lewini* JX827259. Las secuencias con más del 97% de lecturas de alta calidad se alinearon bajo el método MUSCLE (Edgar, 2004), para así

poder identificar variación interpoblacional entre zonas de crianza a nivel de los genomas mitocondriales completos, así como a nivel de genes individuales y concatenados.

### **2.3 Análisis de datos**

Se realizó un análisis detallado del genoma mitocondrial completo para establecer el enfoque más informativo para este trabajo de maestría. Se analizó el genoma mitocondrial completo, así como la porción codificante para proteínas (eliminando las porciones no codificantes y aquellas referentes al RNA). Además, se determinaron y analizaron los genes con mayor polimorfismo de manera individual y concatenada con el fin de identificar los genes con mayor señal de divergencia filopátrica para estudios posteriores.

Para determinar si el patrón filopátrico está relacionado con la escala geográfica se realizaron los análisis a nivel de localidades, estados y regiones. Para la agrupación por estados, Sinaloa estuvo representado por las localidades de La Reforma, Chametla, Las Cabras, Verde Camacho y Teacapán; Nayarit por Boca de Camichín y Punta Santa Cruz; Jalisco por Bahía Navidad, Marabasco y Rebalcito; Oaxaca por Chihehua, y Chiapas por Puerto Madero (Tabla I). En cuanto a regiones, se consideraron las localidades de Sinaloa y Nayarit como la región norte, de Jalisco como la centro, y de Oaxaca y Chiapas como la sur. Dicha zonación se basó en las ecorregiones marinas del Pacífico mexicano que abarcan las localidades consideradas, las cuales son la ecorregión Golfo de California para Sinaloa y Nayarit, la Pacífico Transicional Mexicano para Jalisco y la Pacífico Centroamericano para Oaxaca y Chiapas (Wilkinson *et al.*, 2009).

Para poder identificar variaciones sustanciales de los estimadores de diversidad y divergencia genética se hicieron los cálculos de forma preliminar para un número inicial de secuencias, incrementando en forma consecutiva el tamaño de muestra ( $n = 64, 127, 167$ ) hasta contar con el total de individuos. Utilizando el programa DnaSP 6.10.04 (Rozas *et al.*, 2017) se determinaron los estimadores de diversidad genética: número de haplotipos ( $h$ ), número de sitios polimórficos ( $S$ ) (incluye sitios informativos y sitios variables únicos), diversidad haplotípica ( $H$ ), y diversidad nucleotídica ( $\pi$ ) por localidad, por estado y por región geográfica tanto para el genoma mitocondrial completo como para la porción codificante para proteínas y para los genes con mayor polimorfismo, estos últimos tanto de

manera individual como concatenados. La diversidad haplotípica calcula la probabilidad de escoger al azar dos haplotipos diferentes de una población, mientras que la diversidad nucleotídica es la probabilidad de que dos bases homólogas de dos haplotipos sean diferentes en una misma población.

De la misma forma, se analizaron por separado neonatos y juveniles para evaluar si la señal de filopatría entre las zonas de crianza está en función del tiempo transcurrido entre el nacimiento ( $L_t$  de 45 a 64 cm) y la etapa juvenil ( $L_t$  de 65 a 170 cm) ya que se ha determinado el inicio de las migraciones a aguas oceánicas desde los 95 cm en hembras (Hoyos-Padilla *et al.*, 2014), lo que podría dar indicios de si la filopatría es específica a un estuario en particular o a una región. Se esperaría que los neonatos hubieran sido muestreados en su respectiva zona de crianza, mientras que en los juveniles se contemplaría la posibilidad de que provinieran de diferentes estuarios debido a la movilidad que exhiben en dicha etapa. Con esto se pretendió determinar si existen diferencias entre estuarios cercanos, lo que sería indicativo de filopatría específica. Las edades de los organismos se estimaron en función a sus tallas de acuerdo a Corgos *et al.* (2016b) que se basa en observaciones directas mediante marcaje a partir de las cuales se ha determinado un crecimiento promedio de 5 cm por mes (A. Corgos, comunicación personal, 2018). También se compararon con estimaciones en función a curvas de crecimiento de Anislado-Tolentino *et al.* (2008) y de Zarate Rustrián (2010).

Se realizó una red de haplotipos para visualizar su distribución en los diferentes estados del genoma completo utilizando el programa popART (Leigh y Bryant, 2015) por el método de median joining. Además, se realizó una curva de rarefacción individual para evaluar el tamaño de muestra y determinar la riqueza de haplotipos por estados utilizando el programa Past 3.2 (Hammer *et al.*, 2001).

Para evaluar la diferenciación genética se determinó el estimador  $F_{ST}$  convencional basado en la frecuencia de los haplotipos y el estimador análogo para ADN mitocondrial por matriz de distancias ( $\Phi_{ST}$ ), tanto por localidad como por estado y región para conocer el grado de divergencia entre poblaciones.  $F_{ST}$  calcula las diferencias en las frecuencias alélicas dependiendo de si los haplotipos son iguales o diferentes, mientras que  $\Phi_{ST}$  considera la distancia genética (Holsinger y Weir, 2009), lo cual es más adecuado en estudios que

consideran el genoma mitocondrial completo que contiene mayor variación que porciones restringidas del mismo. También se realizó un análisis de varianza molecular AMOVA por frecuencias de haplotipos y por matriz de distancias por diferencias pareadas con 10000 permutaciones por cada estimación para determinar si existe estructura genética en función a diferentes niveles jerárquicos definidos por estado y por región. Ambos análisis se realizaron utilizando el programa Arlequin ver 3.5.2.2 (Excoffier y Lischer, 2010).

La presencia de barreras al flujo genético entre clados se calculó mediante Barrier v. 2.2 (Manni *et al.*, 2004), el cual establece una red de conectividad triangulada por Delaunay con mosaicos de Voronoi y barreras probables al flujo genético de acuerdo al algoritmo de máxima diferencia de Monmonier. Se utilizó una matriz de distancias linearizadas de Slatkin como estimador de la distancia genética. Las coordenadas geográficas se convirtieron a coordenadas XY con el conversor en línea de la Institución Oceanográfica Woods Hole NDSF.

Finalmente, se realizó una prueba de diferenciación poblacional entre las muestras de cada estado por año para comprobar que la agrupación de distintas temporadas no alteró los patrones genéticos reportados en este trabajo, permitiendo hacer inferencias sobre filopatría y su escala geográfica. Se utilizó el programa Arlequin ver 3.5.2.2 (Excoffier y Lischer, 2010).

### III. RESULTADOS

#### 3.1 Enfoque del análisis

Se obtuvieron 198 secuencias de genomas mitocondriales de *S. lewini*, de los cuales 109 correspondieron a hembras y 88 a machos. Las secuencias se obtuvieron de muestreos comprendidos entre 2013 y 2016 en localidades de los estados de Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Oaxaca y Chiapas (Tabla III). De acuerdo a la prueba de diferenciación poblacional no hubo diferencias significativas en ninguno de los estados según el año de muestreo, por lo que agrupar los distintos años por estado o región no influyó en los patrones genéticos.

**Tabla III.** Secuencias de genoma mitocondrial de neonatos y juveniles de *S. lewini* por localidad en el Pacífico mexicano.

Estado	Localidad	Ensamblados	Neonatos (N) Juveniles (J)
Sinaloa (71)	La Reforma	7	7J
	Chametla	25	13N, 12J
	Las Cabras	9	9J
	Verde Camacho	7	7J
	Teacapán	23	15N, 8J
Nayarit (17)	Boca de Camichín	10	9N, 1J
	Punta Santa Cruz	7	2N, 5J
Jalisco (50)	Bahía Navidad	33	19N, 14J
	Marabasco	8	8N
	Rebalsito	9	7N, 2J
Oaxaca (24)	Chipehua	24	10N, 14J
Chiapas (36)	Puerto Madero	36	21N, 15J
Total		198	104N, 94J

Las localidades con más individuos fueron Chametla, Bahía de Navidad y Puerto Madero, mientras que aquellas con los estimadores de diversidad más bajos frecuentemente coincidieron con las localidades de menor cobertura como Verde Camacho y Punta Santa Cruz. Cabe resaltar que Puerto Madero y Chipehua tuvieron de manera consistente los estimadores de diversidad genética más altos en gran parte de las porciones analizadas.

En cuanto al análisis por localidades, la cercanía entre los estuarios muestreados dentro de los estados, así como la ausencia de diferencias consistentes entre las mismas permitió el agrupamiento de las localidades a nivel de estados y regiones con un mayor tamaño de muestra (Tabla III) y así mayor resolución en una escala geográfica más amplia.

Otro criterio de análisis para determinar la escala espacial adecuada de comparación que permitiera discriminar entre filopatría específica y regional fue utilizar los neonatos ( $n = 104$ ) y juveniles ( $n = 94$ ) por separado, así como en su conjunto. La talla promedio de los organismos analizados fue de 65 cm, lo cual corresponde a edades cercanas a los 2-4 meses (Corgos *et al.*, 2016b) y a los 5-8 meses de acuerdo a estimaciones por curvas de crecimiento (Anislado-Tolentino *et al.*, 2008; Zarate Rustrián, 2010). Las tallas máximas en machos y hembras fueron de 96 y 99 cm respectivamente, por lo que los organismos capturados fueron neonatos y juveniles del año (Corgos *et al.*, 2016b), e incluso con estimaciones por tasas de crecimiento fueron menores a los 2 años de edad (Anislado-Tolentino *et al.*, 2008; Zarate Rustrián, 2010).

Los juveniles comienzan a migrar de los estuarios hacia zonas oceánicas a partir de los 95 cm en hembras y tallas mayores en machos (Hoyos-Padilla *et al.*, 2014), antes de los cuales son residentes en zonas de crianza y mantienen una mayor fidelidad al sitio de nacimiento (Corgos *et al.*, 2016b). Así, la separación en neonatos y juveniles no mostró diferencias en los análisis genéticos siendo todos los organismos muestreados en su respectiva zona de crianza, lo que facilita hacer inferencias respecto a la escala geográfica. Por esta razón, sólo se reporta la diversidad y divergencia genética del total de la muestra para el genoma mitocondrial completo con 16726 pares de bases, la porción codificante con 11407 pb, los genes individuales ND5 con 1830 pb, ND2 con 1045 pb, y la región control con 1088 pb, por estados y regiones. Al concatenar secuencialmente los genes más polimórficos no se encontraron resultados diferentes que con respecto a los genes individuales en cuanto a la estimación de divergencia genética, por lo que no se reporta en las siguientes secciones.

### **3.2 Diversidad genética**

Se calculó la diversidad genética de las 198 secuencias para el genoma mitocondrial completo, así como para las distintas porciones ya mencionadas para determinar el enfoque

más informativo para estudios genéticos en la especie. Los estimadores promedio para las distintas porciones analizadas fueron disminuyendo conforme la longitud del fragmento fue menor, excepto para la diversidad nucleotídica que en general, en todos los casos fue baja (Tabla IV).

**Tabla IV.** Estimadores de diversidad genética del genoma mitocondrial, porción codificante de proteínas, genes y región control donde S: sitios polimórficos, h: número de haplotipos, H: diversidad haplotípica,  $\pi$ : diversidad nucleotídica

Porción analizada	Longitud (pb)	S	h	H	$\pi$
Genoma completo	16726	115	73	0.925	0.00023
Porción codificante proteínas	11407	68	42	0.790	0.00020
ND1	975	5	6	0.070	0.00007
ND2	1045	12	10	0.479	0.00062
COX1	1557	4	5	0.050	0.00003
COX2	691	6	7	0.070	0.00010
ATP8	168	2	3	0.079	0.00047
ATP6	684	4	5	0.098	0.00015
COX3	786	2	3	0.069	0.00009
ND3	349	1	2	0.059	0.00017
ND4L	297	0	1	0.000	0.00000
ND4	1381	8	6	0.126	0.00022
ND5	1830	15	13	0.418	0.00035
ND6	522	3	4	0.088	0.00017
CYTB	1145	6	7	0.108	0.00012
Región control	1088	10	12	0.470	0.00059

Los genes concatenados tuvieron valores intermedios de los estimadores de diversidad genética, lo cual resulta de analizar una cantidad intermedia de pares de bases entre los genes individuales y las porciones de mayor longitud como la porción codificante para proteínas o el genoma mitocondrial completo (Tablas A1 y A2 en los anexos). Debido a que este enfoque no facilitó la detección de estructura genética en el área de estudio no se reporta en las siguientes secciones y sólo se compararon los resultados de diversidad genética por estados y regiones para el genoma mitocondrial y la porción codificante.

El intervalo del número de haplotipos y sitios polimórficos por regiones (considerando las ecorregiones del Pacífico mexicano) fue menor que por estados para las distintas porciones

analizadas debido a que la agrupación generó mayor homogeneidad. Si bien dicha homogeneidad no es informativa, esta agrupación facilitó la detección de variación en los patrones de diversidad de acuerdo a la escala geográfica, siendo más precisa a nivel de estados.

### *3.2.1 Genoma mitocondrial*

El análisis del genoma mitocondrial completo resultó en 115 sitios polimórficos (49 informativos y 66 sitios variables únicos) y 73 haplotipos, con una diversidad haplotípica alta de 0.925 y una diversidad nucleotídica baja de 0.00023. Las doce localidades fueron agrupadas por estados, mostrando un intervalo amplio de sitios polimórficos (S de 14 a 59) y de haplotipos (h de 11 a 31), aunque en menor grado para la diversidad haplotípica (H de 0.862 a 0.967) y nucleotídica ( $\pi$  de 0.00017 a 0.00051). La mayor cantidad de sitios polimórficos se encontró en Chiapas, mientras que el mayor número de haplotipos en Sinaloa, y los valores más altos de diversidad haplotípica y nucleotídica en Oaxaca. Por otro lado, Nayarit tuvo la menor cantidad de sitios polimórficos y haplotipos, Jalisco la menor diversidad haplotípica, y Sinaloa junto con Nayarit la menor diversidad nucleotídica.

Con respecto a la agrupación en regiones (norte, centro y sur) los intervalos de variabilidad genética fueron más estrechos (S de 44 a 68; h de 20 a 36; H de 0.862 a 0.961;  $\pi$  de 0.00017 a 0.00037). En general, en la región sur se observa el mayor número de sitios polimórficos y de diversidad haplotípica y nucleotídica, mientras que el mayor número de haplotipos tanto en el norte como en el sur. La región centro tuvo los valores más bajos de sitios polimórficos, haplotipos y diversidad haplotípica, mientras que la norte tuvo la diversidad nucleotídica más baja.

### *3.2.2 Porción codificante para proteínas*

Por otro lado, se realizó el mismo análisis para la porción codificante para proteínas, con el fin de descartar las porciones más conservadas del genoma las cuales podrían desestimar las diferencias a nivel nucleotídico al no aportar variación. De este análisis se obtuvieron 68 sitios polimórficos (32 informativos y 36 sitios variables únicos) y 42 haplotipos, con una

diversidad haplotípica alta de 0.790 y una diversidad nucleotídica baja de 0.0002, donde todos los estimadores fueron menores que con respecto al genoma mitocondrial completo exceptuando la diversidad nucleotídica que fue poco mayor. Los intervalos de sitios polimórficos y haplotipos disminuyeron (S de 5 a 34; h de 5 a 17) en relación con el genoma mitocondrial completo, mientras que los de diversidad genética se ampliaron (H de 0.684 a 0.841;  $\pi$  de 0.00009 a 0.00053). Los estados con los estimadores de diversidad genética más altos coincidieron con los obtenidos para el genoma completo, mientras que los más bajos los presentó Nayarit.

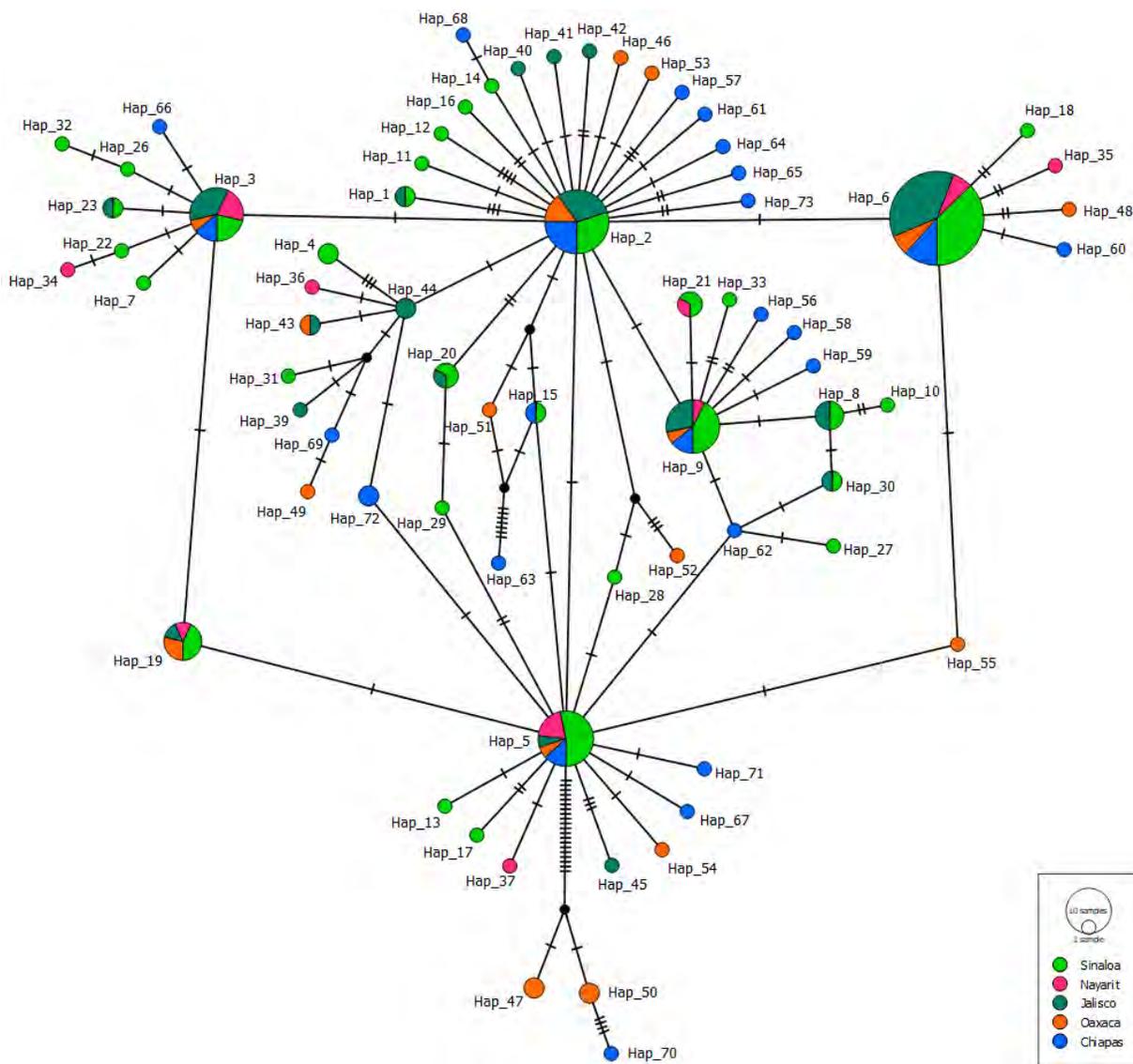
Con respecto a las localidades agrupadas en regiones el rango de diversidad nucleotídica fue mayor en relación con el genoma mitocondrial completo ( $\pi$  de 0.00012 a 0.00035), mientras que los de sitios polimórficos, haplotipos y diversidad haplotípica disminuyeron (S de 28 a 40; h de 11 a 22; H de 0.755 a 0.828). La región sur presentó los estimadores más altos y la norte los más bajos excepto el número de haplotipos y la diversidad haplotípica que se presentaron en el centro.

### *3.2.3 Genes y región control*

Tras el análisis detallado del genoma mitocondrial completo se determinó que la mayor cantidad de sitios polimórficos se ubica en los genes ND5 (S = 15; h = 13; H = 0.418;  $\pi$  = 0.00035), ND2 (S = 12; h = 10; H = 0.479;  $\pi$  = 0.00062) y en la región control (S = 10; h = 12; H = 0.470;  $\pi$  = 0.00059). Del total de sitios polimórficos en ND5 siete fueron informativos y nueve sitios variables únicos. Con respecto a ND2, cinco fueron sitios informativos y siete sitios variables únicos. Finalmente, en la región control siete fueron sitios informativos y tres sitios variables únicos. Estas porciones tuvieron los estimadores de diversidad genética más altos, aunque la variabilidad genética fue baja respecto al genoma completo y/o la porción codificante para proteínas, con valores de diversidad haplotípica menores a 0.479 y de diversidad nucleotídica por debajo de 0.00062. Los demás genes tuvieron una diversidad haplotípica por debajo de 0.126, mientras que los valores de diversidad nucleotídica se mantuvieron bajos en todos los casos (Tabla IV).

### 3.3 Red de haplotipos

La red de haplotipos del genoma mitocondrial completo (Figura 4) mostró 73 haplotipos, de los cuales 53 fueron únicos, donde la mayor cantidad se distribuyeron en Sinaloa (18) y Chiapas (17), seguidos por Oaxaca (8), Jalisco (4) y Nayarit (4).



**Figura 4.** Red de haplotipos del genoma mitocondrial de *Sphyrna lewini*

De los cinco haplotipos más abundantes, el haplotipo 6 fue el más común, presente en 43 individuos (21.7%) de todos los estados, correspondientes a Sinaloa (n = 16), Nayarit (n = 3), Jalisco (n = 16), Oaxaca (n = 3) y Chiapas (n = 5), por lo que posiblemente es el ancestral. El haplotipo 9 tuvo una distribución similar presente en 14 individuos (7.1%) con su mayoría en Sinaloa y Jalisco, los cuales se distribuyeron en Sinaloa (n = 6), Nayarit (n = 1), Jalisco (n = 4), Oaxaca (n = 1) y Chiapas (n = 2).

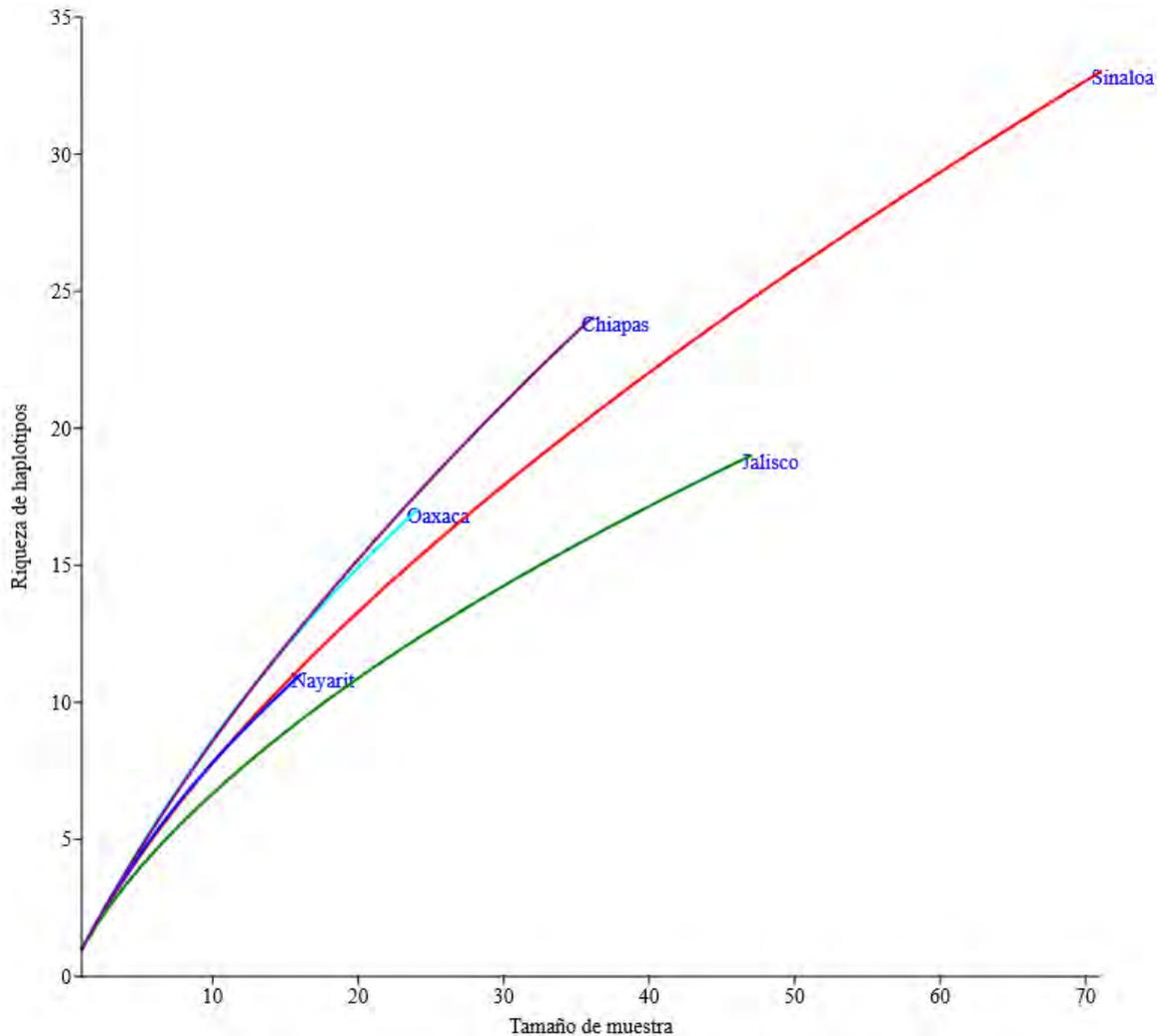
El haplotipo 2 estuvo presente en 17 individuos (8.6%) distribuidos en Sinaloa (n = 5), Jalisco (n = 4), Oaxaca (n = 3) y Chiapas (n = 5), teniendo la mayor cantidad de conexiones tanto con los haplotipos principales como con los únicos y manteniendo una distribución uniforme en los estados excepto en Nayarit, lo cual probablemente se debe al bajo número de individuos colectados en sus dos localidades. El haplotipo 3 se presentó en 14 individuos (7.1%) en Sinaloa (n = 3), Nayarit (n = 3), Jalisco (n = 5), Oaxaca (n = 1) y Chiapas (n = 2). El haplotipo 5 estuvo representado por 13 individuos (6.6%) en Sinaloa (n = 7), Nayarit (n = 2), Jalisco (n = 1), Oaxaca (n = 1) y Chiapas (n = 2).

Sinaloa tuvo un haplotipo compartido con Nayarit (haplotipo 21), cinco con Jalisco (haplotipos 1, 8, 20, 23, 24), y uno con Chiapas (haplotipo 15). Un sólo haplotipo fue compartido entre Jalisco y Oaxaca (haplotipo 43). Sinaloa, Jalisco y Oaxaca compartieron un haplotipo (haplotipo 19).

Los haplotipos 4, 7, 10-14,16-18, 22, 25-33 estuvieron restringidos a Sinaloa (n = 20), los haplotipos 34-37 a Nayarit (n = 4), los haplotipos 38-42,44-45 a Jalisco (n = 7), los haplotipos 46-55 a Oaxaca (n = 10), mientras que del 56-73 a Chiapas (n = 18) siendo en su mayoría haplotipos únicos, exceptuando el 4, 25, 44, 47, 50 y 72 presentes en dos individuos.

La curva de rarefacción se realizó para evaluar cuantitativamente si los distintos tamaños muestrales influenciaron en la riqueza de haplotipos obtenida. De acuerdo a estas curvas Jalisco fue el estado que tuvo una menor riqueza de haplotipos, mientras que Chiapas y Oaxaca fueron los de mayor riqueza, aunque Sinaloa haya sido el estado con mayor número de haplotipos. Aunque Nayarit fue el estado con menos muestras demostró una riqueza muy

similar a la de Sinaloa, por lo que el tamaño de muestra no fue determinante en la riqueza obtenida (Figura 5).



**Figura 5.** Curvas de refracción de la riqueza haplotípica por estados

En cuanto a regiones, la mayor cantidad de haplotipos únicos se ubicaron en el sur ( $n = 25$ ), seguido del norte ( $n = 22$ ) y finalmente del centro ( $n = 4$ ). La región norte compartió cinco haplotipos con el centro (haplotipos 1, 8, 20, 23 y 24) y sólo uno con el sur (haplotipo 15), además de un sólo haplotipo compartido entre centro y sur (haplotipo 43). Los haplotipos restringidos por región mostraron el mismo patrón, con 28 en el sur, 24 en el norte y siete en el centro. Todos los haplotipos principales estuvieron representados en las tres regiones

y no se encontraron patrones distintos de distribución, por lo que sólo se representaron la red de haplotipos y la curva de rarefacción por estados.

La riqueza de haplotipos todavía está lejos de alcanzarse. Esto se debe a que una sola mutación en las 16726 pb del genoma mitocondrial es suficiente para generar un haplotipo nuevo, por lo que la probabilidad de obtener nuevos haplotipos todavía es muy alta y se requeriría un esfuerzo de muestreo mucho mayor para que los resultados fueran diferentes.

### 3.4 Divergencia genética

Al igual que en la sección anterior se estimó la divergencia genética de las 198 secuencias únicamente entre estados y regiones dada la ausencia de divergencia genética entre localidades de manera consistente en los distintos enfoques analizados para el genoma mitocondrial completo, la porción codificante para proteínas y los genes más polimórficos de manera individual.

#### 3.4.1 Divergencia entre estados

Respecto a la divergencia genética por una matriz de distancias por diferencias pareadas del genoma mitocondrial hubo diferencias entre Oaxaca con Sinaloa ( $\Phi_{ST} = 0.111$ ,  $P = 0.001$ ) y Jalisco ( $\Phi_{ST} = 0.083$ ,  $P = 0.004$ ) (Tabla V). De igual manera, se encontró el mismo patrón de diferencias a nivel de estados en la porción codificante para proteínas (Sinaloa y Oaxaca:  $\Phi_{ST} = 0.135$ ,  $P = 0.001$ ; Jalisco y Oaxaca:  $\Phi_{ST} = 0.088$ ,  $P = 0.009$ ) (Tabla VI); en el gen ND2 (Sinaloa y Oaxaca:  $\Phi_{ST} = 0.095$ ,  $P = 0.006$ ; Jalisco y Oaxaca:  $\Phi_{ST} = 0.060$ ,  $P = 0.036$ ) (Tabla VII); y en la región control (Sinaloa y Oaxaca:  $\Phi_{ST} = 0.076$ ,  $P = 0.011$ ; Jalisco Oaxaca:  $\Phi_{ST} = 0.115$ ,  $P = 0.002$ ) (Tabla VIII).

La región control tuvo además un valor de  $\Phi_{ST}$  marginalmente no significativo entre Sinaloa y Jalisco ( $\Phi_{ST} = 0.021$ ,  $P = 0.060$ ), así como entre Jalisco y Chiapas ( $\Phi_{ST} = 0.029$ ,  $P = 0.067$ ) (Tabla VIII). En el caso de ND5, se observaron también diferencias entre Oaxaca con Sinaloa ( $\Phi_{ST} = 0.137$ ,  $P \leq 0.001$ ), Jalisco ( $\Phi_{ST} = 0.087$ ,  $P = 0.005$ ) y Chiapas ( $\Phi_{ST} = 0.063$ ,  $P = 0.033$ ) (Tabla IX).

**Tabla V.** Estimación de  $\Phi_{ST}$  pareadas por estado del genoma mitocondrial. Valores de p en parte superior derecha. Se resalta en negritas valores significativos ( $P < 0.05$ ).

	Sinaloa	Nayarit	Jalisco	Oaxaca	Chiapas
Sinaloa	-	0.667	0.313	<b>0.001</b>	0.358
Nayarit	-0.008	-	0.351	0.102	0.597
Jalisco	0.002	0.004	-	<b>0.004</b>	0.264
Oaxaca	<b>0.111</b>	0.054	<b>0.083</b>	-	0.136
Chiapas	0.001	-0.005	0.005	0.039	-

**Tabla VI.** Estimación de  $\Phi_{ST}$  pareadas por estado de la porción codificante para proteínas. Valores de p en parte superior derecha. Se resalta en negritas valores significativos ( $P < 0.05$ ).

	Sinaloa	Nayarit	Jalisco	Oaxaca	Chiapas
Sinaloa	-	0.859	0.457	<b>0.001</b>	0.337
Nayarit	-0.017	-	0.905	0.10435	0.795
Jalisco	-0.001	-0.025	-	<b>0.009</b>	0.443
Oaxaca	<b>0.135</b>	0.068	<b>0.088</b>	-	0.125
Chiapas	0.001	-0.015	0.000	0.052	-

**Tabla VII.** Estimación de  $\Phi_{ST}$  pareadas por estado del gen ND2. Valores de p en parte superior derecha. Se resalta en negritas valores significativos ( $P < 0.05$ ).

	Sinaloa	Nayarit	Jalisco	Oaxaca	Chiapas
Sinaloa	-	0.835	0.240	<b>0.006</b>	0.345
Nayarit	-0.029	-	0.928	0.169	0.470
Jalisco	0.006	-0.033	-	<b>0.036</b>	0.111
Oaxaca	<b>0.095</b>	0.043	<b>0.060</b>	-	0.125
Chiapas	-0.001	-0.005	0.027	0.037	-

**Tabla VIII.** Estimación de  $\Phi_{ST}$  pareadas por estado de la región control. Valores de p en parte superior derecha. Se resalta en negritas valores significativos ( $P < 0.05$ ).

	Sinaloa	Nayarit	Jalisco	Oaxaca	Chiapas
Sinaloa	-	0.553	0.060	<b>0.011</b>	0.742
Nayarit	-0.011	-	0.061	0.263	0.600
Jalisco	0.021	0.051	-	<b>0.002</b>	0.067
Oaxaca	<b>0.076</b>	0.014	<b>0.115</b>	-	0.126
Chiapas	-0.011	-0.020	0.029	0.030	-

**Tabla IX.** Estimación de  $\Phi_{ST}$  pareadas por estado del gen ND5. Valores de p en parte superior derecha. Se resalta en negritas valores significativos ( $P < 0.05$ ).

	Sinaloa	Nayarit	Jalisco	Oaxaca	Chiapas
Sinaloa	-	0.497	0.662	<b>0.000</b>	0.570
Nayarit	-0.011	-	0.697	0.08890	0.733
Jalisco	-0.008	-0.024	-	<b>0.005</b>	0.979
Oaxaca	<b>0.137</b>	0.064	<b>0.087</b>	-	<b>0.033</b>
Chiapas	-0.007	-0.024	-0.021	<b>0.063</b>	-

Respecto a la divergencia genética por frecuencias haplotípicas sólo se encontraron diferencias significativas entre Jalisco y Oaxaca para el gen ND5 ( $F_{ST} = 0.060$ ,  $P = 0.025$ ) (Tabla X) y para la región control ( $F_{ST} = 0.070$ ,  $P = 0.014$ ) (Tabla XI). La región control además tuvo una estimación de  $F_{ST}$  marginalmente no significativa entre Oaxaca y Chiapas ( $F_{ST} = 0.058$ ,  $P = 0.053$ ) (Tabla XI).

**Tabla X.** Estimación de  $F_{ST}$  pareadas por estado del gen ND5. Valores de p en parte superior derecha. Se resalta en negritas valores significativos ( $P < 0.05$ ).

	Sinaloa	Nayarit	Jalisco	Oaxaca	Chiapas
Sinaloa	-	0.411	0.351	0.073	0.530
Nayarit	-0.005	-	0.879	0.121	0.778
Jalisco	-0.001	-0.031	-	<b>0.025</b>	0.921
Oaxaca	0.035	0.034	<b>0.060</b>	-	0.103
Chiapas	-0.008	-0.031	-0.020	0.034	-

**Tabla XI.** Estimación de  $F_{ST}$  pareadas por estado de la región control. Valores de p en parte superior derecha. Se resalta en negritas valores significativos ( $P < 0.05$ ).

	Sinaloa	Nayarit	Jalisco	Oaxaca	Chiapas
Sinaloa	-	0.706	0.130	0.072	0.808
Nayarit	-0.021	-	0.098	0.387	0.462
Jalisco	0.014	0.037	-	<b>0.014</b>	0.154
Oaxaca	0.038	-0.002	<b>0.070</b>	-	0.053
Chiapas	-0.014	-0.015	0.018	0.058	-

Tras realizar el análisis de barreras de flujo genético por estados se obtuvo una barrera entre las localidades de la región sur (Oaxaca y Chiapas) con respecto a las de la región central (Jalisco) y norte (Nayarit y Sinaloa) (Figura 6), lo cual es consistente con los resultados de  $\Phi_{ST}$  que muestran una clara diferencia entre Oaxaca con Sinaloa y Jalisco para las distintas porciones consideradas.



**Figura 6.** Red de conectividad de los estados muestreados. (a) Barrera de flujo genético más probable detectada con el algoritmo de máxima diferencia de Monmonier. (1) Sinaloa, (2) Nayarit, (3) Jalisco, (4) Oaxaca, (5) Chiapas.

Al realizar el AMOVA considerando a las localidades en los distintos estados (Sinaloa - La Reforma, Chametla, Las Cabras, Verde Camacho y Teacapán; Nayarit - Boca de Camichín y Punta Santa Cruz; Jalisco - Bahía Navidad, Marabasco y Rebasito; Oaxaca - Chipechua; Chiapas - Puerto Madero) hubo una alta variación dentro de las localidades, lo que implica alta diversidad genética y es consistente con los valores altos de diversidad haplotípica. Sin embargo, el valor de  $\Phi_{ST}$  que estima la diversidad a nivel de nucleótidos fue muy bajo, lo que resultó en una señal de divergencia genética baja. Este patrón se mantuvo al analizar el genoma mitocondrial completo, la porción codificante y los genes individuales. Sólo se encontró estructura genética en comparaciones pareadas al analizar el gen ND2 en la agrupación por estados (Tabla XII).

**Tabla XII.** Análisis de varianza molecular (AMOVA) de todas las secuencias del gen ND2 por diferencias pareadas por estado. Se resaltan valores significativos en negritas.

Fuente de variación	% de variación	Índice de fijación	P
Entre estados (Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Oaxaca y Chiapas)	4.33	$\Phi_{CT} = 0.04328$	<b>0.045</b>
Entre localidades dentro de los estados	-3.04	$\Phi_{SC} = -0.03183$	0.653
Dentro de las localidades	98.72	$\Phi_{ST} = 0.01283$	0.326

### 3.4.2 Divergencia entre regiones

En cuanto a la comparación entre regiones, hubo diferencias significativas entre norte y sur a partir de diferencias pareadas en el caso del genoma mitocondrial completo ( $\Phi_{ST} = 0.031$ ,  $P = 0.002$ ) (Tabla XIII), la porción codificante para proteínas ( $\Phi_{ST} = 0.039$ ,  $P = 0.002$ ) (Tabla XIV); en el gen ND5 ( $\Phi_{ST} = 0.036$ ,  $P = 0.008$ ) (Tabla XV) y en ND2 ( $\Phi_{ST} = 0.028$ ,  $P = 0.032$ ) (Tabla XVI). El genoma mitocondrial tuvo además un valor de divergencia marginalmente no significativo entre centro y sur (Tabla XIII). Para la región control se encontró un patrón muy distinto, con diferencias significativas entre centro con norte y sur ( $\Phi_{ST} = 0.029$ ,  $P = 0.035$ ;  $\Phi_{ST} = 0.056$ ,  $P = 0.006$  respectivamente) (Tabla XVII).

**Tabla XIII.** Estimación de  $\Phi_{ST}$  pareadas por región del genoma mitocondrial. Valores de p en parte superior derecha. Se resalta en negritas valores significativos ( $P < 0.05$ ).

	Norte	Centro	Sur
Norte	-	0.198	<b>0.002</b>
Centro	0.004	-	0.055
Sur	<b>0.031</b>	0.021	-

**Tabla XIV.** Estimación de  $\Phi_{ST}$  pareadas por región de la porción codificante para proteínas. Valores de p en parte superior derecha. Se resalta en negritas valores significativos ( $P < 0.05$ ).

	Norte	Centro	Sur
Norte	-	0.528	<b>0.002</b>
Centro	-0.002	-	0.104
Sur	<b>0.039</b>	0.017	-

**Tabla XV.** Estimación de  $\Phi_{ST}$  pareadas por región del gen ND5. Valores de p en parte superior derecha. Se resalta en negritas valores significativos ( $P < 0.05$ ).

	Norte	Centro	Sur
Norte	-	0.815	<b>0.008</b>
Centro	-0.009	-	0.209
Sur	<b>0.036</b>	0.008	-

**Tabla XVI.** Estimación de  $\Phi_{ST}$  pareadas por región del gen ND2. Valores de p en parte superior derecha. Se resalta en negritas valores significativos ( $P < 0.05$ ).

	Norte	Centro	Sur
Norte	-	0.27017	<b>0.032</b>
Centro	0.004	-	0.058
Sur	<b>0.028</b>	0.029	-

**Tabla XVII.** Estimación de  $\Phi_{ST}$  pareadas por región de la región control. Valores de p en parte superior derecha. Se resalta en negritas valores significativos ( $P < 0.05$ ).

	Norte	Centro	Sur
Norte	-	<b>0.035</b>	0.106
Centro	<b>0.029</b>	-	<b>0.006</b>
Sur	0.015	<b>0.056</b>	-

Por medio de frecuencias haplotípicas sólo se encontraron diferencias significativas para el genoma mitocondrial completo entre centro y sur ( $F_{ST} = 0.015$ ,  $P = 0.028$ ) (Tabla XVIII). La región control además tuvo una diferencia no significativa marginal entre centro y sur ( $F_{ST} = 0.024$ ,  $P = 0.068$ ) (Tabla A4 en anexos).

**Tabla XVIII.** Estimación de  $F_{ST}$  pareadas por región del genoma mitocondrial. Valores de p en parte superior derecha. Se resalta valores significativos ( $P < 0.05$ ).

	Norte	Centro	Sur
Norte	-	0.257	0.233
Centro	0.002	-	<b>0.028</b>
Sur	0.002	<b>0.015</b>	-

Al realizar el AMOVA considerando a los estados en las distintas regiones (norte - Sinaloa y Nayarit; centro - Jalisco; sur - Oaxaca y Chiapas) también hubo una alta variación dentro de las localidades. Sin embargo, el valor de  $\Phi_{ST}$  que estima la diversidad a nivel de nucleótidos fue muy bajo, lo que resultó en una señal de divergencia genética baja. Este patrón se mantuvo al analizar el genoma mitocondrial completo, la porción codificante y los genes individuales. Sólo se encontró estructura genética significativa entre regiones por frecuencias haplotípicas para el genoma mitocondrial (Tabla XIX) y marginalmente no significativa al analizar el gen ND2 ( $P = 0.064$ ) (Tabla A3 en anexos).

**Tabla XIX.** Análisis de varianza molecular (AMOVA) por frecuencias haplotípicas del genoma mitocondrial por regiones. Se resaltan valores significativos en negritas.

<b>Fuente de variación</b>	<b>% de variación</b>	<b>Índice de fijación</b>	<b>P</b>
Entre regiones (norte, centro y sur)	0.83	$F_{CT} = 0.00830$	<b>0.037</b>
Entre localidades dentro de las regiones	-0.77	$F_{SC} = -0.00778$	0.818
Dentro de las localidades	99.94	$F_{ST} = -0.00059$	0.572

## IV. DISCUSIÓN

El análisis desglosado del genoma mitocondrial de *S. lewini* en el presente estudio facilitó identificar las variaciones de los estimadores de diversidad y de divergencia genética para las distintas porciones conforme el tamaño de muestra se fue incrementando, desde 64 hasta 198 individuos, siendo el genoma mitocondrial completo el que brinda una mayor resolución en los análisis al recuperarse la señal de divergencia con un número limitado de secuencias, y aumentar al tener mayor representatividad de las localidades (Tabla A5 en anexos); dicha variación se detalla a continuación en la sección de divergencia. Por su parte, los genes individuales, concatenados y la porción codificante para proteínas no mostraron divergencia en ninguna escala geográfica hasta contar con el total de las muestras ( $n = 198$ ), sólo a nivel de localidades, pero con resultados muy variables entre las porciones y según el tamaño de muestra considerado.

La escala geográfica que reflejó de manera más precisa el comportamiento filopátrico fue la agrupación por regiones. La falta de una segregación discrecional de los haplotipos clara y una riqueza de haplotipos similar en estados vecinos sugiere una preferencia de las hembras por un área para dar a luz, no por un sitio específico, lo cual es consistente con la vagilidad de la especie. Además, el muestreo exclusivo de organismos inmaduros y la divergencia obtenida a escala regional aún utilizando el genoma mitocondrial completo sugieren filopatría regional.

### 4.1 Diversidad genética

El primer paso para poder establecer la estructura genética es determinar la variación genética de los individuos de cada población por medio de los estimadores de diversidad genética tradicionales (Garrido-Garduño y Vázquez-Domínguez, 2013). La diversidad haplotípica estimada del genoma mitocondrial de *S. lewini* fue alta ( $H = 0.925$ ), mientras que la nucleotídica fue baja ( $\pi = 0.00023$ ) de manera consistente con lo esperado dada la baja tasa mutacional en elasmobranchios y la mayor representatividad del genoma mitocondrial completo con respecto a porciones menores (Brown *et al.*, 1979; Feutry *et al.*, 2014).

El ADN mitocondrial tiene un tamaño efectivo poblacional de una cuarta parte con respecto al nuclear y refleja tasas de sustitución rápidas (Rubinoff, 2006); no obstante en peces cartilagosos la baja tasa mutacional y la presencia de regiones muy conservadas en el genoma mitocondrial se refleja en una diversidad haplotípica alta junto a una baja variabilidad a nivel nucleotídico (Escovar-Fadul *et al.*, 2017). Organismos con tasas mutacionales más altas, como es el caso de teleósteos, presentan diversidades nucleotídicas considerablemente mayores, como es el caso de la región control de *Lutjanus campechanus* con  $\pi = 0.021$  (Garber *et al.*, 2004) o incluso en la región control de especies altamente explotadas como *Cynoscion acoupa* con  $\pi = 0.003$  (Rodrigues *et al.*, 2008), comparable con la del genoma mitocondrial completo del atún aleta amarilla *Thunnus albacares* con  $\pi = 0.00240$  (Castro Hernández, 2018).

Este patrón es consistente en las diferentes especies de tiburón martillo, Duncan *et al.* (2006) reportó índices altos de diversidad para *S. lewini* ( $H = 0.800$ ;  $\pi = 0.0130$ ), con una diversidad haplotípica similar para *S. zygaena* ( $H = 0.830$ ) y más baja para *S. mokarran* ( $H = 0.640$ ) utilizando sólo la región control de individuos en localidades muy separadas al considerar la escala global. Por su parte, Portnoy *et al.* (2015) obtuvo una diversidad de la región control de *Sphyrna tiburo* más baja ( $H = 0.720$ ), siendo una especie de menor vagilidad. La escala geográfica analizada influye en los valores de diversidad, por lo que es importante realizar estudios tanto globales como regionales dado que la diversidad de linajes en escalas locales es menor, como en el caso de la diversidad haplotípica para la región control de *S. zygaena* en Sudáfrica ( $H = 0.603$ ;  $\pi = 0.0020$ ) (Kuguru, 2017).

Otras especies de tiburones mantienen índices de diversidad altos, como es el caso de la región control de *Prionace glauca* ( $H = 0.920$ ;  $\pi = 0.00787$ ) (Escovar-Fadul *et al.*, 2017) y de *Carcharodon carcharias* ( $H = 0.790$ ;  $\pi = 0.00338$ ) (Jorgensen *et al.*, 2009), o más bajos, como el gen ND4 y la región control concatenados de *Carcharhinus leucas* ( $H = 0.489$ ;  $\pi = 0.00084$ ) (Tillett *et al.*, 2012). Sin embargo, estos cálculos han estado mayoritariamente enfocados en marcadores individuales o concatenados, principalmente la región control, seguida por los genes ND4, COX1, CYTB (que no coinciden con los de mayor polimorfismo en el presente estudio) y ND2, de modo que la diversidad haplotípica

reportada para otros tiburones ha sido más bajas y las nucleotídicas mayores (Kuguru, 2017).

En este estudio la diversidad nucleotídica fue considerablemente más baja dado que se utilizó el genoma mitocondrial completo, lo cual, considerando el grado de conservación de los genes codificantes, reduce las estimaciones al incrementarse el número de nucleótidos en relación con los sitios variables. Por otro lado, debido a que los individuos provienen de un número reducido de progenitores, es de esperarse niveles bajos de diversidad, lo que refuerza la filopatría. La baja tasa mutacional y las regiones muy conservadas del genoma previamente mencionadas pueden dificultar la capacidad para definir el grado de filopatría entre zonas de crianza con marcadores individuales o concatenados, donde el porcentaje de variación en función al número de pares de bases por porción aumenta (Feutry *et al.*, 2014). Aun considerando solamente la región control, los valores de diversidad obtenidos en este estudio fueron considerablemente bajos ( $H = 0.470$ ;  $\pi = 0.00059$ ) con respecto a Duncan *et al.* (2006), debido a que este último incluye diferentes linajes al contemplar una escala global, con lo que los haplotipos de región control muestreados fueron más diversos.

Existen sólo dos estudios que reportan la diversidad genética utilizando el genoma mitocondrial completo para elasmobranquios, con diversidades nucleotídicas considerablemente bajas de manera similar a lo obtenido en este estudio al estarse considerando decenas de miles de pb, a diferencia de los análisis que sólo consideran porciones con cientos de pb. Para el genoma mitocondrial de *Glyphis glyphis*, un tiburón con una distribución y vagilidad muy restringidas, la diversidad haplotípica y nucleotídica fueron menores que con respecto a este estudio ( $H = 0.760$ ;  $\pi = 0.00019$ ) (Feutry *et al.*, 2014), mientras que para *Pristis pristis*, una especie de batoideo eurihalino severamente amenazado, la diversidad haplotípica fue similar y la nucleotídica considerablemente más alta ( $H = 0.919$ ;  $\pi = 0.00110$ ) (Feutry *et al.*, 2015).

La ventaja de calcular los estimadores de diversidad genética para distintas porciones fue que permitió conocer la variación intraespecífica del genoma mitocondrial para establecer qué tan informativo es cada marcador mitocondrial (Kuguru, 2017), e identificar los genes con mayor variación para contribuir a optimizar futuros estudios evolutivos de la especie. Además facilitó conocer la influencia del tamaño de muestra sobre los distintos

estimadores, pudiendo tener buena resolución con menos muestras de genoma mitocondrial completo respecto a genes individuales (Feutry *et al.*, 2015).

Los rangos de los estimadores de diversidad genética en este trabajo se restringen conforme la escala geográfica es más amplia, dado que los tamaños de muestra son similares y los haplotipos se distribuyen de manera más homogénea en menos grupos aunque pertenezcan a linajes distintos. Los genes más polimórficos de manera individual mostraron resultados variables en los estimadores de diversidad genética a nivel de estados y regiones, según la porción analizada. Al concatenarlos, los valores más altos y bajos de los estimadores de diversidad mostraron valores más consistentes a nivel de estados, pero variables a nivel regional. La porción codificante para proteínas fue la única porción consistente con el genoma mitocondrial completo; sin embargo, no resulta funcional secuenciar por separado cada uno de los 13 genes, dado que los avances tecnológicos han permitido obtener genomas completos a costos reducidos y velocidades mayores (Dudgeon *et al.*, 2012). Por esta razón, el genoma mitocondrial completo ofrece la mayor ventaja en relación costo-beneficio, con un mayor número de sitios informativos y más opciones de análisis (Feutry *et al.*, 2014).

En cuanto a la escala geográfica, la agrupación de las localidades por estados permitió una buena representatividad en ellos para tener comparaciones más significativas, sin que la distribución de los haplotipos, tanto compartidos como únicos, se homogeneizara como en el caso de la agrupación por regiones. La gran cantidad de haplotipos únicos representados por pocos individuos en las poblaciones es consistente con los altos valores de diversidad haplotípica previamente reportados (Calle-Arenas y García-Merchán, 2011).

Sinaloa tuvo el mayor número de haplotipos ( $h = 31$ ), siendo el estado mejor muestreado. Sin embargo, de acuerdo a las curvas de rarefacción, no fue el estado con mayor riqueza de haplotipos sino Chiapas, segundo estado con el mayor número de haplotipos ( $h = 24$ ), lo cual resulta preocupante dada la cantidad de tiburones martillos inmaduros extraídos provenientes solamente de la localidad de Puerto Madero ( $n = 36$ ). Ambos estados coinciden con las principales áreas de pesquerías de tiburones en el país (SAGARPA, 2013). Chiapas incluso ocupó el primer lugar en captura de tiburones del Pacífico Mexicano en 2003 (Soriano Velásquez *et al.*, 2006).

La riqueza de haplotipos de Oaxaca fue muy similar a la de Chiapas, estando representado también por una sola localidad, Chipechua, que tuvo la mayor diversidad haplotípica y nucleotídica para el genoma mitocondrial y para la porción codificante para proteínas. Si bien Chipechua, Oaxaca ha sido una localidad propuesta por Bejarano-Álvarez (2007) como zona de crianza por la alta concentración de neonatos, juveniles y hembras grávidas que presenta, no está reconocida dentro de la NOM 029-PESC-2006 como tal, ni ninguna otra área correspondiente al Golfo de Tehuantepec (DOF, 2007). Durante los vientos tehuanos (noviembre a enero) las condiciones ambientales dificultan la pesca de tiburón, por lo que se dirige a captura de escama donde los juveniles salen incidentalmente (Alejo Plata *et al.*, 2006; Zarate Rustrián, 2010). Por ende, resulta imperativo monitorear con mayor detalle las poblaciones de *S. lewini* en el Golfo de Tehuantepec para implementar mejores planes de manejo que garanticen su explotación sostenible y su sobrevivencia, además de identificar con precisión las zonas de crianza de mayor importancia (Quintanilla *et al.*, 2015).

Los haplotipos no muestran una segregación clara entre los estados o regiones. Algunos haplotipos muestran una distribución amplia, como en el caso del haplotipo 6 (el más abundante) y el 9, los cuales predominan tanto en Sinaloa como en Jalisco, o los haplotipos 2 y 19 compartidos por tres y cuatro estados, respectivamente. Sin embargo, se observa que entre más alejados están los estados o regiones menos haplotipos comparten; así Sinaloa y Chiapas, o la región norte y sur, solamente comparten un haplotipo (haplotipo 15). Sinaloa y Nayarit también sólo comparten uno, lo cual probablemente se debe al tamaño de muestra considerablemente menor en Nayarit, sin que eso se viera reflejado en su riqueza de haplotipos de acuerdo a la curva de rarefacción. Oaxaca y Chiapas no comparten haplotipos entre ellos, pero sí con otros estados lo que probablemente es evidencia de que la riqueza de haplotipos todavía está lejos de alcanzarse, tal y como reflejó la curva de rarefacción.

La amplia distribución de haplotipos entre los distintos estados sin que exista una clara segregación discrecional de estos junto con la riqueza similar entre estados vecinos (Nayarit-Sinaloa o Oaxaca-Chiapas) puede considerarse una evidencia de filopatría a escala regional. Así, la agrupación por estados eventualmente podría descartar que la especie regrese a estuarios específicos aportando elementos para concluir que la filopatría ocurre a

nivel regional, lo cual implicaría que los planes de manejo deberían adecuarse a esta escala espacial (Flowers *et al.*, 2016).

#### 4.2 Divergencia genética

Respecto a la divergencia genética, el agrupamiento por regiones permitió una mejor identificación de diferencias al tener un mayor poder estadístico. El análisis por matriz de distancias mostró divergencia genética entre norte y sur con  $\Phi_{ST}$  significativos bajos entre 0.028 y 0.039 para las porciones analizadas, excepto para la región control.

El análisis desglosado del genoma mitocondrial de *S. lewini* facilitó identificar las variaciones de los estimadores de divergencia genética para las distintas porciones conforme el tamaño de muestra se fue incrementando. En el caso del genoma mitocondrial completo para la agrupación por regiones, no se obtuvo divergencia significativa hasta que se consideraron 127 secuencias, con valores de  $\Phi_{ST}$  de 0.013 ( $P = 0.04$ ) entre norte y sur pero sin estructura genética de acuerdo al análisis de AMOVA. Al utilizar 198 secuencias los valores significativos de  $\Phi_{ST}$  aumentaron a 0.031 ( $P = 0.002$ ), con estructura genética entre regiones ( $p = 0.037$ ) de acuerdo al análisis AMOVA (Tabla A5 en anexos).

El análisis por estados mostró divergencia genética entre Oaxaca con Sinaloa y Jalisco con  $\Phi_{ST}$  significativos moderados entre 0.060 y 0.135, pero resalta la ausencia de dicho patrón para Chiapas, o de divergencia entre Sinaloa y Jalisco, lo cual refuerza la conclusión de filopatría regional. Aún cuando los  $\Phi_{ST}$  fueron mayores por estados, posiblemente se debe a una menor representación de ciertas localidades. Así, el agrupamiento por regiones resulta más adecuado, con valores de  $\Phi_{ST}$  menores pero más robustos por una menor influencia de muestreos poco representativos y deficientes.

La estructura genética obtenida entre localidades fue muy variable existiendo divergencia tanto entre estuarios vecinos como distantes, lo cual varió en gran medida del tamaño de muestra y de la porción analizada. Adicionalmente el AMOVA mostró estructura genética coincidente para estados con el gen ND2 y para regiones con el genoma mitocondrial completo. El ADN mitocondrial ha mostrado filopatría regional cuando las diferencias genéticas se manifiestan entre zonas de crianza separadas por cientos o miles de kilómetros

(Feldheim *et al.*, 2014; Hueter *et al.*, 2005; Tillett *et al.*, 2012). Oaxaca está separado de Jalisco por 1400 km, mientras que de Sinaloa por 2400 km aproximadamente, por lo que la escala geográfica a la que se detectó estructura genética posiblemente por filopatría fue regional.

Las especies marinas tienden a tener valores de  $F_{ST}$  bajos, sobre todo organismos pelágicos dado su alto potencial migratorio, aunque se ha demostrado algún grado de filopatría natal en muchas especies de tiburones (Heist, 2009), siendo el campo magnético un mecanismo propuesto para regresar a zonas de crianza, el cual cambia con el tiempo y puede alterar la precisión de navegación (Hueter *et al.*, 2004), mientras que los años de permanencia refinan su posición (Feldheim *et al.*, 2014; Mourier y Planes, 2013).

Gran parte de los estudios en tiburones que han identificado divergencia genética por filopatría la reconocen a escala regional, como es el caso de el tiburón puntas negras *Carcharhinus limbatus* ( $F_{ST} = 0.111$ ) (Hueter *et al.*, 2005) e incluso se ha demostrado filopatría en el caso de tiburón blanco ( $F_{ST}$  de 0.68 a 0.97), el cual migra hasta 5000 km de la costa a hábitats pelágicos (Jorgensen *et al.*, 2009), entre otros. La filopatría regional sucede por lo general en organismos de maduración tardía, los cuales regresan a áreas natales, pero no exactamente a la misma localidad sino a un rango de regiones contiguas, posiblemente debido al periodo amplio entre el nacimiento y la primera reproducción (Chapman *et al.*, 2015; Feldheim *et al.*, 2014).

En algunos casos se ha establecido que la filopatría es específica, como en el caso del tiburón puntas negras *C. melanopterus* donde los tiburones utilizaron zonas a menos de 50 km de su sitio natal (Mourier y Planes, 2013), así como en *N. brevirostris* donde el 50% de las hembras retornaron a su sitio de nacimiento en un ciclo bienal (Feldheim *et al.*, 2014, 2004). Sin embargo, estas especies son de movimiento restringido, lo cual facilita la identificación de filopatría (Heist, 2009), a diferencia del tiburón martillo que es una especie semioceánica con amplios movimientos migratorios. También utilizando el genoma mitocondrial completo se ha logrado definir filopatría específica en *Glyphis glyphis* con  $\Phi_{ST}$  de 0.178 a 0.531 (Feutry *et al.*, 2014), y en *Pristis pristis* con  $\Phi_{ST}$  significativos altos de 0.464 a 0.894, para la cual anteriormente sólo existían evidencias a nivel regional (Feutry *et al.*, 2015).

En el caso de *S. lewini*, estudios de estructura poblacional a escala global no demostraron divergencia por filopatría entre sitios conectados por la línea de costa, sólo entre cuencas oceánicas. Duncan *et al.* (2006) no descartaron la existencia de filopatría natal pero establece que la filopatría natal es baja en la especie, con un valor alto de divergencia entre zonas de crianza alejadas ( $\Phi_{ST}$  de 0.525), y se consideró que las barreras geográficas eran la principal causa de estructura genética y de la radiación evolutiva del género *Sphyrna*. Daly-Engel *et al.* (2012) reportaron valores similares con  $F_{ST}$  de 0.499 y  $\Phi_{ST}$  de 0.629. Cabe considerar que al abarcar escalas globales se incluye una diversidad de linajes mayor. A escalas menores, Spaet *et al.* (2015) reportó divergencia en la especie sólo entre cuencas oceánicas por falta de flujo génico más que por filopatría, con un  $F_{ST}$  de 0.0130 mas no entre sitios conectados por la línea de costa del Océano Indico, comparando al tiburón martillo con especies pelágicas como el tiburón azul donde tampoco se ha encontrado divergencia entre poblaciones del Pacífico oriental y occidental (Escovar-Fadul *et al.* 2017).

*S. lewini* comienza a tener movimientos fuera de las áreas de crianza a partir del año (Corgos *et al.*, 2016b), con migraciones registradas de hasta 3350 km (Hoyos-Padilla *et al.*, 2014), siendo hasta los cinco años en machos y seis en hembras aproximadamente que alcanzan la madurez sexual (Anislado-Tolentino *et al.*, 2008), Al crecer, estos organismos suelen tener requerimientos energéticos mayores, buscando a sus presas en zonas oceánicas, lo cual implica desplazamientos mayores sobre todo en hembras, que regresan a zonas costeras en las fases finales de gestación (Hoyos-Padilla *et al.*, 2014), siendo más práctico utilizar un sitio próximo a donde nacieron, en contraste con especies de tiburón martillo con menor vagilidad como *S. tiburo* que presenta filopatría en localidades de la costa de Florida (Portnoy *et al.*, 2015).

El presente estudio permitió detectar diferencias en una escala espacial más reducida a diferencia de la escala global reportada en estudios previos. La escala por estados si bien resulta útil para las pesquerías y el establecimiento de vedas, no reflejó patrones evolutivos para la especie. El diseño experimental se enfocó en el muestreo exclusivo de neonatos y juveniles del año en sitios reportados de nacimiento y crianza de la especie. De esta forma se asegura recuperar los linajes dentro de las zonas de crianza, lo cual permite descartar la

posibilidad de considerar que las diferencias genéticas son resultado de estructura genética y no de filopatría (Heist, 2009; Tillett *et al.*, 2012). Además, al utilizar el genoma mitocondrial completo es posible determinar con mayor precisión la composición de linajes en las zonas de crianza, incrementando la resolución y dado que no aumentó la especificidad de la divergencia en la escala geográfica se sustenta la conclusión de que la especie exhibe filopatría regional. No obstante, de manera congruente a lo establecido por Duncan *et al.* (2006) esta conducta no es acentuada.

Las herramientas genéticas facilitan el estudio de la filopatría al proporcionar información a largo plazo de la genealogía del individuo y de sus patrones de movimiento. Estudios en organismos marinos muestran que el ADN mitocondrial frecuentemente es un buen primer indicador para mostrar estructura genética dado su menor tamaño efectivo poblacional en relación con el nuclear (Hung *et al.*, 2016) al tener un tamaño efectivo poblacional de un cuarto con respecto al nuclear y poseer tasas de substitución rápidas, lo que lo hace especialmente informativo a nivel de poblaciones (Rubinoff, 2006). No obstante, dado que la tasa mutacional en elasmobranchios es considerablemente baja y que el genoma de peces cartilagosos mantiene regiones muy conservadas, se puede dificultar la capacidad para definir el grado de filopatría entre zonas de crianza cuando son considerados genes individuales, cuya representatividad del genoma mitocondrial completo es mínima.

Los avances tecnológicos en el campo de la genética han permitido hacer una transición del estudio de fragmentos de genes a utilizar genomas completos a costos accesibles y velocidades mayores (Dudgeon *et al.*, 2012), empero en algunos casos todavía representa un costo relativamente alto. La capacidad para detectar estructura entre poblaciones depende de la variación existente en los marcadores genéticos. Así, la resolución de estructura genética a una escala geográfica menor se puede perder si no se utilizan marcadores con suficiente variación; por tanto al incrementar la cobertura en el número de sitios con el genoma completo se incrementa la resolución, más aún en grupos con bajas tasas mutacionales del genoma mitocondrial como en elasmobranchios (Martin *et al.*, 1992).

La región control ha sido una porción ampliamente utilizada para estudios genéticos (Spaet *et al.*, 2015) al ser una porción muy variable (Sandoval-Castillo *et al.* 2003). Sin embargo,

los análisis de este estudio que consideraron esta porción concatenada o individual generaron un patrón de divergencia poco consistente y carente de un patrón definido respecto al del genoma completo y a los otros genes más polimórficos, siendo esta la única porción que mostró divergencia entre la región centro con el norte y el sur. De este modo, la región control demostró ser un marcador molecular limitado para determinar adecuadamente la divergencia poblacional de *Sphyrna lewini* entre zonas de crianza del Pacífico mexicano, de igual forma a lo reportado por Feutry *et al.* (2014) para *Glyphis glyphis*. Otras porciones mitocondriales muy utilizadas en elasmobranchios para detectar estructura poblacional han sido los genes ND4, COX1, CYTB y ND2 (Escovar-Fadul *et al.*, 2017; Kuguru, 2017).

Aunque en este estudio todas las porciones analizadas exceptuando la región control mostraron el mismo patrón de divergencia a nivel de estados y regiones, se ha demostrado que es frecuente obtener resultados variables en función al marcador utilizado aún en la misma región geográfica (Rocha-Olivares y Sandoval-Castillo, 2003). Por esta razón, trabajar con genes individuales o con región control generalmente implica que el tamaño de muestra sea mayor para poder identificar patrones consistentes de divergencia poblacional sin que la resolución a escalas geográficas menores se vaya perdiendo (Feutry *et al.*, 2014). En el caso de *Pristis pristis*, utilizar el genoma mitocondrial completo permitió diferenciar entre poblaciones que antes eran consideradas una sola, detectando filopatría específica en escala geográfica local y no regional como se había reportado anteriormente (Feutry *et al.*, 2015). Además, estudios recientes sugieren que es poco probable que genes mitocondriales individuales arrojen información con sustento suficiente para ser aceptada universalmente en el reconocimiento de linajes de especies (Rubinoff, 2006).

A pesar de la utilidad del ADN mitocondrial para definir filopatría, es necesario contrastar resultados con marcadores nucleares (Green, 2014), ya que estos cuentan con patrones evolutivos distintos debido a los mecanismos de herencia anteriormente mencionados (Rubinoff, 2006) y al utilizar ambos marcadores es posible identificar con precisión el tamaño efectivo poblacional (Hung *et al.*, 2016), los patrones de dispersión por flujo génico o los efectos de la deriva génica, para así poder confirmar la filopatría como la causa de las diferencias genéticas observadas (Dudgeon *et al.*, 2012; Portnoy *et al.*, 2015). Dado que en

tiburones este comportamiento suele ocurrir de manera diferencial entre sexos, se esperarían valores altos de  $F_{ST}$  en marcadores mitocondriales pero no en los nucleares, indicando una mayor fidelidad de las hembras a sitios particulares (Hueter *et al.*, 2005).

La ausencia de diferencias entre estuarios adyacentes y la recuperación de una señal de divergencia agrupando las localidades por regiones o incluso estados, aporta elementos para concluir que la filopatría ocurre a nivel regional. No obstante, no es posible descartar la posibilidad de que al incrementar la representatividad de individuos en estuarios adyacentes puedan observarse diferencias. En este sentido, el hecho de no detectar diferencias entre estuarios de Oaxaca y Chiapas, permite descartar con algún nivel de confianza la ausencia de diferencias en una escala local. Sin embargo, es necesario que el número de organismos entre las diferentes localidades sea más homogéneo para descartar que la especie regrese a estuarios específicos y que sea descartado el efecto del tamaño de muestra como un factor determinante. Se ha demostrado que un incremento en el tamaño de muestra puede ser determinante para aumentar la resolución de los análisis y poder detectar estructura genética (Dudgeon *et al.*, 2012; Lewallen *et al.*, 2007), sobre todo considerando que los cálculos de diferenciación genética pudieran haber estado subestimados dada la alta diversidad haplotípica por haplotipos únicos (Calle-Arenas y García-Merchán, 2011).

También, se precisa tener continuidad en los muestreos de las zonas costeras del Pacífico mexicano, sobre todo entre Jalisco y Oaxaca, que abarca aproximadamente 1500 km. Esta área corresponde a los estados de Colima, Michoacán y Guerrero, donde, si bien la producción pesquera de tiburón es baja (SAGARPA, 2013), existen varias lagunas costeras estacionales que pudieran representar posibles zonas de crianza para tiburón martillo (Wilkinson *et al.*, 2009). En Michoacán se han identificado zonas de alimentación, apareamiento y crianza para *S. lewini*, y organismos inmaduros de la especie en Guerrero y Michoacán (Damián Guillén, 2009). Un muestreo intenso en áreas limitadas permite conocer los límites de distribución mas no la fuente de la variación genética de una especie, que pudiera originarse fuera del área muestreada (Hung *et al.*, 2016), por lo que determinar los sitios de muestreo a escala temporal y espacial adecuadamente es crucial, considerando el hábitat y potencial de dispersión de los organismos (Bowen *et al.*, 2014; Hueter *et al.*, 2004).

Poco más de una década después de la publicación de la NOM 029-PESC-2006 y del trabajo de Bizzarro *et al.* (2007) todavía es insuficiente la investigación básica realizada por especies. La pesquería de elasmobranquios se ha extendido en tamaño e importancia por la disminución de los principales teleósteos de importancia comercial. La pesca artesanal es capaz de causar agotamientos locales o regionales de las distintas especies, sobre todo considerando que hasta un 80% de su captura son organismos inmaduros (Soriano Velásquez *et al.*, 2006), aunque también se debe contemplar el agotamiento causado por la pesca de gran y mediana altura (J. L. Castillo, comunicación personal, 2018), y generalmente los detalles sobre la zona de pesca específica no está disponible para los trabajos de investigación de las instituciones pesqueras ni académicas.

El mapeo de las zonas de crianza se ha identificado desde hace décadas como crítico para el reclutamiento, manejo y protección de los tiburones (Castro, 1993), aunque para el tiburón martillo pocos se han encargado de definir las (Quintanilla *et al.*, 2015) sobre todo bajo los criterios de Heupel *et al.* (2007) de no sólo abundancia de neonatos y juveniles, sino también fidelidad al sitio y uso recurrente del mismo durante varios años. En latitudes templadas éstas son utilizadas estacionalmente, pero en aguas tropicales los juveniles residen durante varios años, sin necesidad de migrar por cambios drásticos de temperatura (Castro, 1993) y de esta manera cobran mayor importancia en la sobrevivencia de especies como *S. lewini*. Incluso se ha reportado una alternancia en las zonas de nacimiento de la especie en la Costa Sur de Jalisco, lo que refuerza el comportamiento filopátrico regional (Corgos *et al.*, 2016b), y considerando que además se agrupa en cardúmenes en la fase adulta son factores que incrementan su vulnerabilidad (Bizzarro *et al.*, 2007).

Es necesaria una revisión de las zonas de crianza considerando información a largo plazo y en todo el Pacífico mexicano, incluyendo localidades del Golfo de Tehuantepec donde una alta proporción de juveniles ha sido reconocida y reportada como sobreexplotada (Damián Guillén, 2009; Soriano Velásquez *et al.*, 2006). Los periodos de veda también podrían mejorarse para disminuir la vulnerabilidad de la especie, ya que Anislado-Tolentino *et al.* (2008) entre otros ha reportado alta presencia de juveniles en agosto en Sinaloa, y los periodos de alumbramiento más intensos en el Golfo de Tehuantepec son de junio a agosto (Soriano Velásquez *et al.*, 2006), quedando agosto fuera de los periodos de veda actuales.

La utilización de sitios natales puede ser inferido indirectamente por el ADN mitocondrial de organismos ya capturados por la pesca local (Mourier y Planes, 2013). Sin embargo, aún se requiere de información adicional a largo plazo del ciclo completo de las poblaciones por medio del monitoreo de organismos vivos mediante marcaje, recapturas y telemetría desde el nacimiento hasta la etapa de hembras adultas grávidas de las distintas zonas para dilucidar el comportamiento (Dudgeon *et al.*, 2012) y determinar con precisión el grado de filopatría, lo cual requiere de muchos recursos (Feldheim *et al.*, 2014; Hueter *et al.*, 2005).

El marcaje y la telemetría facilitan identificar zonas de importancia reproductiva, tal como el monitoreo *S. mokarran* en el Atlántico permitió identificar zonas a las que mostraban fidelidad aún con desplazamientos de más de 3000 km y entender sus patrones de movimiento en relación con la estacionalidad en ambos sexos, además de identificar posibles zonas de reproducción y alumbramiento (Guttridge *et al.*, 2017). Por otro lado, Smale *et al.* (2015) pudieron diferenciar cómo los neonatos de *Carcharias taurus* se distribuyeron exclusivamente en una bahía durante todo un año, mientras que juveniles y adultos tuvieron desplazamientos mayores a lo largo de múltiples arrecifes. La pesca dificulta la recaptura de marcas (Bizzarro *et al.*, 2007), pero sólo entendiendo los movimientos dentro y entre poblaciones es posible determinar sus efectos (Chapman *et al.*, 2015).

Recientemente se han observado incrementos anuales en las capturas de *S. lewini* a partir de los observadores científicos, tras haber disminuido considerablemente de 1996 al 2001 (Soriano Velásquez *et al.*, 2006). Lo anterior sugiere una recuperación paulatina de sus poblaciones tras las regulaciones de la NOM 029-PESC-2006 (J. L. Castillo, comunicación personal, 2018). Sin embargo, es necesario contrastar la información pesquera con valores de diversidad para la especie por año, incluyendo la de organismos adultos de ambos sexos, y así tener más elementos para afirmar que las medidas de manejo pesquero y protección sobre tiburones ha favorecido el mantenimiento de la diversidad genética de *S. lewini*.

La capacidad de los individuos a moverse entre regiones resulta importante al momento de evitar sobreexplotación pesquera local y homogeneizar las capturas entre distintas zonas para no concentrar el esfuerzo en las hembras reproductivas y adecuar las escalas geográficas de manejo a las mismas en las que se presente estructura poblacional (Chapman

*et al.*, 2015; Flowers *et al.*, 2016). El conocer el grado de filopatría con precisión permitirá definir de mejor manera los planes de explotación para *S. lewini*, determinando las regiones geográficas que deban ser prioritarias para la conservación al representar poblaciones únicas por el bagaje genético que poseen, y así evitar menguar el potencial reproductivo de la especie.

## V. CONCLUSIONES

- El genoma mitocondrial completo mostró una mayor resolución en los análisis de diversidad y divergencia genética aún cuando las porciones con mayor variación (ND5, ND2 y la región control) fueron analizadas de manera individual y concatenada, permitiendo utilizar un menor número de individuos para determinar divergencia entre regiones principalmente, e incrementando el tamaño de muestra también entre estados.
- La región control no resultó útil en este estudio tanto concatenada con otras porciones como de manera individual al no mostrar un patrón de divergencia definido ni consistente con el resto de los enfoques utilizados.
- La distribución de algunos haplotipos y riqueza similar en estados vecinos muestra una preferencia de las hembras por un área para dar a luz, no de un sitio específico, lo que es consistente con la vagilidad de la especie y sugiere filopatría regional.
- La divergencia genética del genoma mitocondrial de *Sphyrna lewini* fue baja pero significativa a nivel de regiones con una estructura consistente entre norte y sur, y moderada entre estados con estructura entre Oaxaca con Sinaloa y Jalisco en gran parte de las porciones analizadas, aportando evidencia de filopatría regional en el Pacífico Mexicano.
- Aún utilizando exclusivamente el genoma mitocondrial completo de organismos inmaduros el patrón de divergencia se obtuvo entre regiones y estados, lo que refuerza la filopatría regional.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Se requiere aumentar el tamaño de muestra por localidad, sexo y etapa de desarrollo, además de cubrir el Pacífico Central Mexicano en su totalidad para poder para determinar o descartar filopatría regional a nivel de estados o incluso la existencia de filopatría específica entre localidades.
- Es necesario incorporar análisis utilizando marcadores nucleares y técnicas complementarias como marcaje o telemetría para dilucidar la dinámica poblacional de la especie y así poder establecer estrategias de conservación adecuadas.

## LITERATURA CITADA

- Alejo Plata, M. D. C., Ramos Carrillo, S., Cruz Ruiz, J. L. (2006). La pesquería artesanal del tiburón en Salina Cruz, Oaxaca, México. *Ciencia y Mar*, X(30), pp. 37–51.
- Amezcuca, F., Madrid-Vera, J., Aguirre-Villaseñor, H. (2006). Effect of the artisanal shrimp fishery on the ichthyofauna in the coastal lagoon of Santa María la Reforma, southeastern Gulf of California. *Ciencias Marinas*, 32(1B), pp. 97–109.
- Anislado-Tolentino, V., Gallardo Cabello, M., Amezcua Linares, F., Robinson-Mendoza, C. (2008). Age and growth of the scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini* (Griffith & Smith, 1834) from the Southern coast of Sinaloa, Mexico. *Hidrobiológica*, 18(1), pp. 31–40.
- Anislado-Tolentino, V., Robinson-Mendoza, C. (2001). Edad y crecimiento del tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Griffith y Smith, 1834) en el Pacífico Central de México. *Ciencias Marinas*, 27, pp. 501–520.
- Arzola-González, J. F., Flores-Campaña, L. M. (2008). Alternatives for the use of decapod crustaceans in Estero El Verde Camacho, Sinaloa, Mexico. *Universidad y Ciencia*, 24(1), pp. 41–48.
- Avise, J. C. (2009). Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, 36(1), pp. 3–15.
- Avise, J. C., Arnold, J., Ball, R. M., Bermingham, E., Lamb, T., Neigel, J. E., ... Saunders, N. C. (1987). Intraspecific Phylogeography: The Mitochondrial DNA Bridge Between Population Genetics and Systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 18(1), pp. 489–522.
- Barker. (1998). Phenol-Chloroform Isoamyl Alcohol (PCI) DNA Extraction.
- Baum, J., Clarke, S., Domingo, A., Ducrocq, M., Lamónaca, A. F., Gaibor, N., ... Vooren, C. M. (2007). *Sphyrna lewini*. The IUCN Red List of Threatened Species 2007: e.T39385A10190088.
- Bejarano-Álvarez, M. (2007). *Biología reproductiva del tiburón martillo Sphyrna lewini (Griffith y Smith, 1834) en Salina Cruz, Oaxaca, México*. Instituto Politécnico Nacional.
- Bizzarro, J. J., Smith, W. D., Hueter, R. E., Tyminski, J., Márquez-Farias, J. F., Castillo-Géniz, J. L., ... Villavicencio Garayzar, C. J. (2007). El estado actual de los tiburones y rayas sujetos a explotación comercial en el golfo de California: una investigación aplicada al mejoramiento de su manejo pesquero y conservación. *Moss Landing Marine Laboratories Tech. Pub.*, 2009(02), pp. 261.
- Bowen, B. W., Shanker, K., Yasuda, N., Maria, M. C., Von Der Heyden, S., Paulay, G., ... Toonen, R. J. (2014). Phylogeography unplugged: Comparative surveys in the genomic era. *Bulletin of Marine Science*, 90(1), pp. 13–46.

- Brown, W. M., George, M., Wilson, A. (1979). Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, 76, pp. 1967–1971.
- Calle-Arenas, W. C., García-Merchán, V. H. (2011). Estadística filogeográfica en *Culex annulirostris*: construcción de redes de haplotipos en estudios de genealogías intraespecíficas, usando tres metodologías diferentes. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*, 23, pp. 31–41.
- Camhi, M. D., Valenti, S. V., Fordham, S. V., Fowler, S. L., Gibson, C. (2009). *The conservation status of pelagic sharks and rays: Report of the IUCN Shark Specialist Group Pelagic Shark Red List Workshop*. Newbury, UK: IUCN Species Survival Commission Shark Specialist Group.
- Carrera-Fernández, M. (2011). *Parámetros reproductivos de los tiburones piloto (Carcharhinus falciformis), martillo (Sphyrna lewini) y azul (Prionace glauca) en el Pacífico Mexicano*. Instituto Politécnico Nacional.
- Castillo-Olguín, E., Uribe-Alcocer, M., Díaz-Jaimes, P. (2012). Evaluación de la estructura genética poblacional de *Sphyrna lewini* para la identificación de unidades de conservación en el Pacífico Mexicano. *Ciencias Marinas*, 38(4), pp. 635–652.
- Castro Hernández, P. A. (2018). *Variabilidad genética del genoma mitocondrial del atún aleta amarilla Thunnus albacares y filogeografía global de sus poblaciones*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Castro, J. I. (1983). *The sharks of North American waters*. Texas A&M University Press, College Station.
- Castro, J. I. (1993). The shark nursery of Bulls Bay, South Carolina, with a review of the shark nurseries of the southeastern coast of the United States. *Environmental Biology of Fishes*, 38, pp. 37–48.
- Castro, J. I. (2011). *The Sharks of North America*. Oxford University Press.
- Chapman, D. D., Feldheim, K. A., Papastamatiou, Y. P., Hueter, R. E. (2015). There and Back Again: A Review of Residency and Return Migrations in Sharks, with Implications for Population Structure and Management. *Annual Review of Marine Science*, 7, pp. 547–570.
- Chapman, D. D., Pinhal, D., Shivji, M. S. (2009). Tracking the fin trade: Genetic stock identification in western Atlantic scalloped hammerhead sharks *Sphyrna lewini*. *Endangered Species Research*, 9(3), pp. 221–228.
- Chen, X., Xiang, D., Xu, Y., Shi, X. (2015). Complete mitochondrial genome of the scalloped hammerhead *Sphyrna lewini* (Carcharhiniformes: Sphyrnidae). *Mitochondrial DNA*, 26(4), pp. 621–622.
- Coiraton, C., Amezcua, F., Salgado-Ugarte, I. H. (2017). Estructura de longitudes de las capturas del tiburón martillo común (*Sphyrna lewini*) en el Pacífico mexicano. *Ciencia*

- Pesquera*, 25(1), pp. 27–40.
- Compagno, L. J. V. (1977). Phyletic Relationships of Living Sharks and Rays. *Integrative and Comparative Biology*, 17(2), pp. 303–322.
- Compagno, L. J. V. (1984)a. *FAO Species Catalogue, Part 2 Sharks of the World* (Vol. 4).
- Compagno, L. J. V. (1990). Alternative life-history styles of cartilaginous fishes in time and space. *Environmental Biology of Fishes*, 28(1), pp. 33–75.
- Compagno, L. J. V., Dando, M., Fowler, S. (2005). *A field guide to sharks of the world*. London: Harper Collins Publishing Ltd.
- Compagno, L. J. V. (1984)b. *Fao Species Catalogue Vol . 4 , Part 1 Sharks of the World. Fao Fisheries Synopsis*, 4(125), pp. 249.
- CONANP. (2012). *Estudio previo justificativo para el establecimiento del área natural protegida con la categoría de Área de Protección de Flora y Fauna Bahía de Santa María, en el estado de Sinaloa*. México.
- Corgos, A., Godínez-Domínguez, E., Flores-Ortega, J. R., Rojo-Vázquez, J. A. (2014). Comunidades de fondos blandos submareales de la bahía de Navidad (Jalisco, México): Patrones espaciales y temporales. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(4), pp. 1171–1183.
- Corgos, A., Rosende-Pereiro, A., Lucano, C. (2016a). Evaluación de la metodología de muestreo de juveniles del año de tiburón martillo, *Sphyrna lewini*, para estudios de ecología en zonas costeras. *Ciencia Pesquera*, 24(núm. especial), pp. 69–79.
- Corgos, A., Rosende-Pereiro, A., Lucano, C., Carbajal, A., Rico, E., Sánchez, A. (2016b). Identificación de áreas de cría del tiburón martillo *Sphyrna lewini* en zonas costeras de Jalisco y Colima. Puerto Vallarta: VII Simposium Nacional de Tiburones y Rayas.
- Daly-Engel, T. S., Seraphin, K. D., Holland, K. N., Coffey, J. P., Nance, H. A., Toonen, R. J., Bowen, B. W. (2012). Global phylogeography with mixed-marker analysis reveals male-mediated dispersal in the endangered scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). *PLoS ONE*, 7(1).
- Damián Guillén, M. I. (2009). *Aspectos biológicos pesqueros de tiburones y especies de captura incidental desembarcados por la flota tiburonera del puerto de Zihuatanejo, Guerrero, México*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- de la Lanza Espino, G., Ortiz Pérez, M. A., Carbajal Pérez, J. L. (2013). Diferenciación hidrogeomorfológica de los ambientes costeros del Pacífico, del Golfo de México y del Mar Caribe. *Investigaciones Geográficas, Boletín del Instituto de Geografía, UNAM*, (81), pp. 33–50.
- DOF. (2007). Norma Oficial Mexicana NOM-029-PESC-2006, Pesca responsable de tiburones y rayas. Especificaciones para su aprovechamiento. Mexico: SAGARPA.

- DOF. (2012). Acuerdo por el que se modifica el Aviso por el que se da a conocer el establecimiento de épocas y zonas de veda para la pesca de diferentes especies de la fauna acuática en aguas de jurisdicción federal de los Estados Unidos Mexicanos. Mexico: SAGARPA.
- DOF. (2014). Acuerdo por el que se modifica el Aviso por el que se da a conocer el establecimiento de épocas y zonas de veda para la pesca de diferentes especies de la fauna acuática en aguas de jurisdicción federal de los Estados Unidos Mexicanos. Mexico: SAGARPA.
- Domeier, M. L. (2012). *Global Perspectives on the Biology and Life History of the White Shark*. CRC Press.
- Dudgeon, C. L., Blower, D. C., Broderick, D., Giles, J. L., Holmes, B. J., Kashiwagi, T., ... Ovenden, J. R. (2012). A review of the application of molecular genetics for fisheries management and conservation of sharks and rays. *Journal of Fish Biology*, 80(5), pp. 1789–1843.
- Duncan, K. M., Martin, A. P., Bowen, B. W., De Couet, H. G. (2006). Global phylogeography of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*). *Molecular Ecology*, 15(8), pp. 2239–2251.
- Eckert, K. L., Bjorndal, K. A., Abreu-Grobois, F. A., Donnelly, M. (Editores). (2000). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas*. Pennsylvania, EUA: Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE.
- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), pp. 1792–1797.
- Escovar-Fadul, X., Caballero, S., Espinoza, E., Bessudo, S. (2017). Population Structure and Genetic Diversity of the Blue Shark *Prionace Glauca* in the Eastern Tropical Pacific: Evidence and Conservation Implications from Mitochondrial DNA and Microsatellite Analyses. *Oceanography & Fisheries*, 2(5), pp. 1–8.
- Excoffier, L., Lischer, H. E. L. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*. 10: 564-567.
- FAO. (2012). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura*. Roma.
- Feldheim, K. A., Gruber, S. H., Ashley, M. V. (2004). Reconstruction of Parental Microsatellite Genotypes Reveals Female Polyandry and Philopatry in the Lemon Shark, *Negaprion brevirostris*. *Evolution*, 58(10), pp. 2332–2342.
- Feldheim, K. A., Gruber, S. H., Dibattista, J. D., Babcock, E. A., Kessel, S. T., Hendry, A. P., ... Chapman, D. D. (2014). Two decades of genetic profiling yields first evidence of natal philopatry and long-term fidelity to parturition sites in sharks. *Molecular Ecology*, 23(1), pp. 110–117.

- Feutry, P., Kyne, P. M., Pillans, R. D., Chen, X., Marthick, J. R., Morgan, D. L., Grewe, P. M. (2015). Whole mitogenome sequencing refines population structure of the Critically Endangered sawfish *Pristis pristis*. *Marine Ecology Progress Series*, 533, pp. 237–244.
- Feutry, P., Kyne, P. M., Pillans, R. D., Chen, X., Naylor, G. J., Grewe, P. M. (2014). Mitogenomics of the Speartooth Shark challenges ten years of control region sequencing. *BioMed Central Evolutionary Biology*, 14(232), pp. 1–9.
- Filonov, A. E., Tereshchenko, I. E., Monzón, C. O., González-Ruelas, M. E., Godínez-Domínguez, E. (2000). Variabilidad estacional de los campos de temperatura y salinidad en la zona costera de los estados de Jalisco y Colima, México. *Ciencias*, 26(2), pp. 303–321.
- Fischer, W., Krupp, F., Schneider, W., Sommer, C., Carpenter, K. E., Niem, V. H. (1995). *Guía FAO para la identificación de especies para fines de pesca. Pacífico centro-oriental*. Roma: FAO.
- Flowers, K. I., Ajemian, M. J., Bassos-Hull, K., Feldheim, K. A., Hueter, R. E., Papastamatiou, Y. P., Chapman, D. D. (2016). A review of batoid philopatry, with implications for future research and population management. *Marine Ecology Progress Series*, 562, pp. 251–261.
- Furlong-Estrada, E., Tovar-Ávila, J., Pérez-Jiménez, J. C., Ríos-Jara, E. (2015). Resilience of *Sphyrna lewini*, *Rhizoprionodon longurio*, and *Carcharhinus falciformis* at the entrance to the Gulf of California after three decades of exploitation. *Ciencias Marinas*, 41(1), pp. 49–63.
- Futuyma, D. J. (2005). *Evolution* (1st Editio.). Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Gallagher, A. J., Hammerschlag, N., Shiffman, D. S., Giery, S. T. (2014). Evolved for extinction: The cost and conservation implications of specialization in hammerhead sharks. *BioScience*.
- Gallegos-Camacho, R., Tovar-Ávila, J. (2011). Estimación de las longitudes total, furcal y patrón de juveniles de tiburón martillo, *Sphyrna lewini* (Carcharhiniformes: Sphyrnidae), a partir de las longitudes alternativa e interdorsal. *Ciencia Pesquera*, 19(2), pp. 39–43.
- Galtier, N., Nabholz, B., Glémin, S., Hurst, G. D. D. (2009). Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal. *Molecular Ecology*, 18(22), pp. 4541–4550.
- Garber, A. F., Tringali, M. D., Stuck, K. C. (2004). Population structure and variation in red snapper (*Lutjanus campechanus*) from the Gulf of Mexico and Atlantic coast of Florida as determined from mitochondrial DNA control region sequence. *Marine Biotechnology*, 6(2), pp. 175–185.

- García-Oliva, F., Ezcurra, E., Galicia, L. (1991). Pattern of rainfall distribution in the Central Pacific Coast of Mexico. *Geografiska Annaler*, 73, pp. 179–186.
- García-Oliva, F., Maass, J. M., Galicia, L. (1995). Rainstorm analysis and rainfall erosivity of a seasonal tropical region with a strong cyclonic influence on the Pacific Coast of Mexico. *Journal of Applied Meteorology*, 34, pp. 2491–2498.
- Garrido-Garduño, T., Vázquez-Domínguez, E. (2013). Métodos de análisis genéticos, espaciales y de conectividad en genética del paisaje. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84(3), pp. 1031–1054.
- Gilbert, C. R. (1967). A revision of the hammerhead sharks (Family Sphyrnidae). *Proceedings of the United States National Museum*, 119(35391), pp. 1–88.
- Glamore, W. C., Rayner, D. S., Rahman, P. F. (2016). Estuaries and climate change. Technical Monograph prepared for the National Climate Change Adaptation Research Facility. Water Research Laboratory of the School of Civil and Environmental Engineering, UNSW.
- Green, M. E. (2014). *A mitochondrial and genome wide genetic investigation of Galapagos shark (Carcharhinus galapagensis) populations in the southwest Pacific Ocean*. James Cook University.
- Guttridge, T. L., Van Zinnicq Bergmann, M. P. M., Bolte, C., Howey, L. A., Finger, J. S., Kessel, S. T., ... Gruber, S. H. (2017). Philopatry and Regional Connectivity of the Great Hammerhead Shark, *Sphyrna mokarran* in the U.S. and Bahamas. *Frontiers in Marine Science*, 4(3), pp. 1–15.
- Hammer, O., Harper, D. A. T., Ryan, P. D. (2001). PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis, 4(1), pp. 9.
- Hearn, A., Ketchum, J., Klimley, A. P., Espinoza, E., Peñaherrera, C. (2010). Hotspots within hotspots? Hammerhead shark movements around Wolf Island, Galapagos Marine Reserve. *Marine Biology*, 157(9), pp. 1899–1915.
- Heinicke, M. P., Naylor, G. J. P., Hedges, S. B. (2009). Cartilaginous fishes (Chondrichthyes). En S. B. Hedges & S. Kumar (Eds.), *The Timetree of Life* (pp. 320–327). Oxford University Press.
- Heist, E. J. (2004). Genetics of sharks, skates and rays. En J. C. Carrier, J. A. Musick, & M. R. Heithaus (Eds.), *Biology of Sharks and their Relatives* (pp. 471–485). Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Heist, E. J. (2009). Molecular Markers and Genetic Population Structure of Pelagic Sharks. En M. D. Camhi, E. K. Pikitch, & E. A. Babcock (Eds.), *Sharks of the Open Ocean: Biology, Fisheries and Conservation* (p. 536). Blackwell Publishing.
- Hernandez Carvallo, A. (1967). Observaciones hammerhead sharks (*Sphyrna*) in waters near Mazatlan, Sinaloa, Mexico. En P. W. Gilbert, R. F. Mathewson, & D. P. Rall (Eds.), *Sharks, Skates and Rays*. Baltimore, Maryland: The Johns Hopkins Press.

- Heupel, M. R., Carlson, J. K., Simpfendorfer, C. A. (2007). Shark nursery areas: Concepts, definition, characterization and assumptions. *Marine Ecology Progress Series*, 337, pp. 287–297.
- Hickerson, M. J., Carstens, B. C., Cavender-Bares, J., Crandall, K. A., Graham, C. H., Johnson, J. B., ... Yoder, A. D. (2010). Phylogeography's past, present, and future: 10 years after Avise, 2000. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54(1), pp. 291–301.
- Holsinger, K. E., Weir, B. S. (2009). Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting FST. *Nature Reviews Genetics*, 10(9), pp. 639–650.
- Hoyos-Padilla, E. M., Ketchum, J. T., Klimley, A. P., Galván-Magaña, F. (2014). Ontogenetic migration of a female scalloped hammerhead shark *Sphyrna lewini* in the Gulf of California. *Animal Biotelemetry*, 2(17), pp. 1–9.
- Hueter, R. E., Heupel, M. R., Heist, E. J., Keeney, D. B. (2005). Evidence of Philopatry in Sharks and Implications for the Management of Shark Fisheries. *e-Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 35, pp. 239–247.
- Hueter, R. E., Mann, D. A., Maruska, K. P., Sisneros, J. A., Demski, L. S. (2004). Sensory Biology of Elasmobranchs. En J. Carrier, J. A. Musick, & M. Heithaus (Eds.), *Biology of Sharks and their Relatives*. CRC Press.
- Hung, C., Drovetski, S. V., Zink, R. M. (2016). Matching loci surveyed to questions asked in phylogeography. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(20152340), pp. 1–8.
- Jorgensen, S. J., Reeb, C. A., Chapple, T. K., Anderson, S., Perle, C., Van Sommeran, S. R., ... Block, B. A. (2009). Philopatry and migration of Pacific white sharks. *Proceedings of the Royal Society B*, 277(1682), pp. 679–688.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., ... Drummond, A. (2012). Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647-1649.
- Keeney, D. B., Heist, E. J. (2006). Worldwide phylogeography of the blacktip shark (*Carcharhinus limbatus*) inferred from mitochondrial DNA reveals isolation of western Atlantic populations coupled with recent Pacific dispersal. *Molecular Ecology*, 15, pp. 3669–3679.
- Kennish, M. J. (2005). Estuaries, Anthropogenic Impacts. En *Encyclopedia of Coastal Science*. Encyclopedia of Earth Science Series.
- Kessler, W. S. (2006). The circulation of the eastern tropical Pacific: A review. *Progress in Oceanography*, 69, pp. 181–217.

- Ketchum, J. T., Hearn, A., Klimley, A. P., Espinoza, E., Peñaherrera, C., Largier, J. L. (2014). Seasonal changes in movements and habitat preferences of the scalloped hammerhead shark (*Sphyrna lewini*) while refuging near an oceanic island. *Marine Biology*, 161(4), pp. 755–767.
- Ketchum, J. T., Hearn, A., Klimley, A. P., Peñaherrera, C., Espinoza, E., Bessudo, S., ... Arauz, R. (2014). Inter-island movements of scalloped hammerhead sharks (*Sphyrna lewini*) and seasonal connectivity in a marine protected area of the eastern tropical Pacific. *Marine Biology*, 161(4), pp. 939–951.
- Klimley, A. P., Cabrera-Mancilla, I., Castillo-Géniz, J. L. (1993). Horizontal and vertical movements of the scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini*, in the southern Gulf of California, Mexico. *Ciencias Marinas*, 19(1), pp. 95–115.
- Kozak, E. R., Franco-Gordo, C., Suárez-Morales, E., Palomares-García, R. (2014). Seasonal and interannual variability of the calanoid copepod community structure in shelf waters of the Eastern Tropical Pacific. *Marine Ecology Progress Series*, 507, pp. 95–110.
- Kuguru, G. (2017). *Molecular species identification and spatio-temporal assessment of genetic diversity in the smooth hammerhead shark *Sphyrna zygaena* in South Africa*. Stellenbosch University.
- Leigh, J. W., Bryant, D. (2015). PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods Ecol Evol* 6(9):1110–1116.
- Lewallen, E. A., Anderson, T. W., Bohonak, A. J. (2007). Genetic structure of leopard shark (*Triakis semifasciata*) populations in California waters. *Marine Biology*, 152(3), pp. 599–609.
- Lim, D. D., Motta, P., Mara, K., Martin, A. P. (2010). Phylogenetics of hammerhead sharks (Family Sphyrnidae) inferred from mitochondrial and nuclear genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55, pp. 572–579.
- Manni, F., Guérard, E., Heyer, E. (2004). Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by using "Monmonier's algorithm". *Human Biology*, 76(2), pp. 173–190.
- Martin, A. P., Naylor, G. J. P., Palumbi, S. R. (1992). Rates of mitochondrial DNA evolution in sharks are slow compared with mammals. *Nature*, 357, pp. 153–155.
- Mayr, E. (1963). *Animal species and evolution*. Cambridge: Harvard University Press.
- Metzker, M. L. (2010). Sequencing technologies the next generation. *Nature Reviews Genetics*, 11(1), pp. 31–46.
- Momigliano, P., Harcourt, R., Robbins, W. D., Jaiteh, V., Mahardika, G. N., Sembiring, A., Stow, A. (2017). Genetic structure and signatures of selection in grey reef sharks (*Carcharhinus amblyrhynchos*). *Heredity*, 119, pp. 142.

- Moore, A. B. M., Gates, A. R. (2015). Deep-water observation of scalloped hammerhead *Sphyrna lewini* in the western Indian Ocean off Tanzania. *Marine Biodiversity Records*, 8(e91), pp. 1–4.
- Moretti, L. (2014). *Caracterização do genoma mitocodrial de onça-pintada (Panthera oca) e elucidação da filogenia mitogenômica do gênero Panthera.*
- Mourier, J., Planes, S. (2013). Direct genetic evidence for reproductive philopatry and associated fine-scale migrations in female blacktip reef sharks (*Carcharhinus melanopterus*) in French Polynesia. *Molecular Ecology*, 22(1), pp. 201–214.
- Moyle, P. B., Cech, J. J. J. (2004). Sharks, Rays and Chimaeras. En *Fishes: An Introduction to Ichthyology* (5th Ed., p. 726). USA: Prentice-Hall, Inc., Pearson.
- Nelson, J. S. (2006). *Fishes of the World* (4th Ed.). Hoboken, New Jersey, USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Pérez-Jiménez, J. C. (2014). Historical records reveal potential extirpation of four hammerhead sharks (*Sphyrna* spp.) in Mexican Pacific waters. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 24(2), pp. 671–683.
- Pérez-Jiménez, J. C., Sosa-Nishizaki, O., Furlong-Estrada, E., Corro-Espinosa, D., Venegas-Herrera, A., Barragán-Cuencas, O. V. (2005). Artisanal shark fishery at “Tres Marias” Islands and Isabel Island in the Central Mexican Pacific. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, 35, pp. 333–343.
- Portnoy, D. S., Puritz, J. B., Hollenbeck, C. M., Gelsleichter, J., Chapman, D., Gold, J. R. (2015). Selection and sex-biased dispersal: the influence of philopatry on adaptive variation. *PeerJ*, pp. 1–20.
- Quintanilla, S., Gómez, A., Mariño-Ramírez, C., Sorzano, C., Bessudo, S., Soler, G., ... Caballero, S. (2015). Genética de la conservación de tiburón martillo en la costa Pacífica de Colombia. *Journal of Heredity*.
- Ramírez-Amaro, S. R., Cartamil, D., Galván-Magaña, F., González-Barba, G., Graham, J. B., Carrera-Fernández, M., ... Rochin-Alamillo, A. (2013). The artisanal elasmobranch fishery of the Pacific coast of Baja California Sur, Mexico, management implications. *Scientia Marina*, 77(3), pp. 473–487.
- Ramos-Cruz, S. (2009). Tallas, sexo y desarrollo gonádico de *Litopenaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda: Penaeidae), durante la veda de 1999 en el Golfo de Tehuantepec, México. *Ciencia Pesquera*, 17(2), pp. 29–39.
- Rocha-Olivares, A., Sandoval-Castillo, J. R. (2003). Diversidad mitocondrial y estructura genética en poblaciones alopátricas del huachinango del Pacífico *Lutjanus peru*. *Ciencias Marinas*, 29(2), pp. 197–209.

- Rodrigues, R., Schneider, H., Santos, S., Vallinoto, M., Sain-Paul, U., Sampaio, I. (2008). Low levels of genetic diversity depicted from mitochondrial DNA sequences in a heavily exploited marine fish (Cynoscion. *Genetics and Molecular Biology*, 31(2), pp. 487–492.
- Rosende Pereiro, A., Corgos, A. (2018). Pilot acoustic tracking study on young of the year scalloped hammerhead sharks, *Sphyrna lewini*, within a coastal nursery area in Jalisco, Mexico. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 46(4), pp. 645–659.
- Rozas, J., Ferrer-Mata, A., Sánchez-DelBarrio, J. C., Guirao-Rico, S., Librado, P., Ramos-Onsins, S. E., Sánchez-Gracia, A. (2017). DnaSP v6: Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Molecular Biology and Evolution* 34: 3299-3302.
- Rubinoff, D. (2006). Utility of mitochondrial DNA barcodes in species conservation. *Conservation Biology*, 20(4), pp. 1026–1033.
- SAGARPA. (2013). *Anuario Estadístico de Acuicultura y pesca Edición 2013*. Sinaloa, México.
- Salomón-Aguilar, C. ., Villavicencio-Garáyzar, C. ., Reyes-Bonilla, H. (2009). Shark breeding grounds and seasons in the Gulf of California: Fishery management and conservation strategy. *Ciencias Marinas*, 35(4), pp. 369–388.
- Schrey, A. W., Heist, E. J. (2003). Microsatellite analysis of population structure in the shortfin mako (*Isurus oxyrinchus*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 60(6), pp. 670–675.
- SICA-OSPESCA. (2005). *Fisheries and Aquaculture Integration Policy for the Central American Isthmus*. Panamá, Panamá.
- Simpfendorfer, C. A., Milward, N. E. (1993). Utilisation of a tropical bay as a nursery area by sharks of the families Carcharhinidae and Sphyrnidae. *Environmental Biology of Fishes*, 37(4), pp. 337–345.
- Smale, M. J., Dicken, M. L., Booth, A. J. (2015). Seasonality, behaviour and philopatry of spotted ragged-tooth sharks *Carcharias taurus* in Eastern Cape nursery areas, South Africa. *African Journal of Marine Science*, 37(2), pp. 219–231.
- Soriano Velásquez, S. R., Acal Sánchez, D. E., Castillo Géniz, J. L., Vázquez Gómez, N., Ramírez Santiago, C. (2006). La Pesquería de Tiburón del Golfo de Tehuantepec. En F. Arreguín Sánchez, L. Beléndez Moreno, I. Méndez Gómez-Humarán, R. Solana Sansores, & C. Rangel Dávalos (Eds.), *Sustentabilidad y Pesca Responsable en México. Evaluación y Manejo* (pp. 323–364). SAGARPA.
- Spaet, J. L. Y., Jabado, R. W., Henderson, A. C., Moore, A. B. M., Berumen, M. L. (2015). Population genetics of four heavily exploited shark species around the Arabian Peninsula. *Ecology and Evolution*, 5(12), pp. 2317–2332.

- Tapia-García, M., García-Abad, M. C., Carranza-Edwards, A., Vázquez-Gutiérrez, F. (2007). Environmental characterization of the continental shelf of the Gulf of Tehuantepec, Mexico. *Geofísica Internacional*, 46(4), pp. 249–260.
- Tillett, B. J., Meekan, M. G., Field, I. C., Thorburn, D. C., Ovenden, J. R. (2012). Evidence for reproductive philopatry in the bull shark *Carcharhinus leucas*. *Journal of Fish Biology*, 80, pp. 2140–2158.
- Torres-Huerta, A. M., Villavicencio-Garayzar, C., Corro-Espinosa, D. (2008). Biología reproductiva de la cornuda común *Sphyrna lewini* Griffith y Smith (Sphyrnidae) en el Golfo de California. *Hidrobiológica*, 18(3), pp. 227–238.
- Torres-Rojas, Y., Hernández-Herrera, A., Galván-Magaña, F. (2006). Feeding habits of the scalloped hammerhead shark, *Sphyrna lewini*, in Mazatlán waters, southern Gulf of California, Mexico. *Cybium*, 30(4), pp. 85–90.
- Trasviña, A., Lluch-Cota, D., Filonov, A. E., Gallegos, A. (1999). El Pacífico Mexicano y El Niño. En V. Magaña (Ed.), *Los Impactos de El Niño en México* (pp. 69–78). México: Centro de Ciencias de la Atmósfera, UNAM.
- Valadez-González, C. (2000). *Hábitos alimentarios de las rayas (Chondrichthyes: Rajiformes) capturadas en la plataforma continental de Jalisco y Colima, México. Septiembre 1997-agosto 1998*. Universidad de Colima.
- Vélez-Zuazo, X., Agnarsson, I. (2011). Shark tales: A molecular species-level phylogeny of sharks (Selachimorpha, Chondrichthyes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 58, pp. 207–217.
- Vidal Zepeda, R. (2005). *Las regiones climáticas de México*. (M. Pavón, Ed.) Instituto de Geografía, UNAM. Mexico.
- Weigmann, S. (2016). Annotated checklist of the living sharks, batoids and chimaeras (Chondrichthyes) of the world, with a focus on biogeographical diversity. *Journal of Fish Biology*, 88(3), pp. 837–1037.
- Wilkinson, T., Wiken, E., Bezaury Creel, J., Hourigan, T., Agardy, T., Herrmann, H., ... Padilla, M. (2009). *Ecorregiones marinas de América del Norte*. Montreal: Comisión para la Cooperación Ambiental.
- Wyrtki, K. (1965). Surface Currents of the Eastern Tropical Pacific Ocean. *Inter-American Tropical Tuna Commission*, IX(5), pp. 271–294.
- Yates, P. M., Heupel, M. R., Tobin, A. J., Simpfendorfer, C. A. (2012). Diversity in young shark habitats provides the potential for portfolio effects. *Marine Ecology Progress Series*, 458, pp. 269–281.
- Zarate Rustrián, J. (2010). *Edad y crecimiento del tiburón martillo Sphyrna lewini (Griffith & Smith, 1834) en la Costa Sur de Oaxaca, México*. Instituto Politécnico Nacional.

## ANEXOS

**Tabla A1.** Estimadores de diversidad genética para todas las porciones analizadas por estado donde S: sitios polimórficos, h: número de haplotipos, H: diversidad haplotípica,  $\pi$ : diversidad nucleotídica

Estados	Genoma mitocondrial	Porción codificante proteínas	ND5	ND2	Región control	ND5+ND2	ND5+ND2+ región control
Sinaloa (71)	S = 41 h = 31 H = 0.924 $\pi$ = 0.00017	S = 25 h = 17 H = 0.802 $\pi$ = 0.00013	S = 5 h = 6 H = 0.449 $\pi$ = 0.00027	S = 3 h = 4 H = 0.412 $\pi$ = 0.00041	S = 5 h = 7 H = 0.472 $\pi$ = 0.00048	S = 8 h = 9 H = 0.701 $\pi$ = 0.00032	S = 13 h = 15 H = 0.838 $\pi$ = 0.00036
Nayarit (17)	S = 14 h = 11 H = 0.934 $\pi$ = 0.00017	S = 5 h = 5 H = 0.684 $\pi$ = 0.00009	S = 2 h = 3 H = 0.324 $\pi$ = 0.00018	S = 1 h = 2 H = 0.441 $\pi$ = 0.00042	S = 2 h = 3 H = 0.559 $\pi$ = 0.00056	S = 3 h = 4 H = 0.618 $\pi$ = 0.00027	S = 5 h = 6 H = 0.824 $\pi$ = 0.00035
Jalisco (50)	S = 44 h = 20 H = 0.862 $\pi$ = 0.00018	S = 29 h = 11 H = 0.755 $\pi$ = 0.00016	S = 7 h = 4 H = 0.340 $\pi$ = 0.00028	S = 7 h = 6 H = 0.558 $\pi$ = 0.00067	S = 6 h = 6 H = 0.322 $\pi$ = 0.00038	S = 14 h = 8 H = 0.711 $\pi$ = 0.00042	S = 20 h = 12 H = 0.788 $\pi$ = 0.00041
Oaxaca (24)	S = 41 h = 17 H = 0.967 $\pi$ = 0.00051	S = 29 h = 11 H = 0.841 $\pi$ = 0.00053	S = 9 h = 7 H = 0.598 $\pi$ = 0.00086	S = 6 h = 4 H = 0.612 $\pi$ = 0.00132	S = 6 h = 6 H = 0.703 $\pi$ = 0.00123	S = 15 h = 8 H = 0.757 $\pi$ = 0.00103	S = 21 h = 12 H = 0.909 $\pi$ = 0.00109
Chiapas (36)	S = 59 h = 24 H = 0.962 $\pi$ = 0.00026	S = 34 h = 16 H = 0.830 $\pi$ = 0.00021	S = 6 h = 4 H = 0.376 $\pi$ = 0.00031	S = 6 h = 5 H = 0.419 $\pi$ = 0.00054	S = 5 h = 3 H = 0.427 $\pi$ = 0.00058	S = 12 h = 6 H = 0.619 $\pi$ = 0.00039	S = 17 h = 8 H = 0.783 $\pi$ = 0.00045

**Tabla A2.** Estimadores de diversidad genética para todas las porciones analizadas por región donde S: sitios polimórficos, h: número de haplotipos, H: diversidad haplotípica,  $\pi$ : diversidad nucleotídica

Regiones (Norte, Centro y Sur)	Genoma mitocondrial	Porción codificante proteínas	ND5	ND2	Región control	ND5+ND2	ND5+ND2+ región control
Norte (88)	S = 48 h = 36 H = 0.925 $\pi$ = 0.00017	S = 28 h = 19 H = 0.779 $\pi$ = 0.00012	S = 6 h = 7 H = 0.425 $\pi$ = 0.00025	S = 3 h = 4 H = 0.413 $\pi$ = 0.00041	S = 6 h = 8 H = 0.487 $\pi$ = 0.00050	S = 9 h = 10 H = 0.682 $\pi$ = 0.00031	S = 15 h = 17 H = 0.831 $\pi$ = 0.00036
Centro (50)	S = 44 h = 20 H = 0.862 $\pi$ = 0.00018	S = 29 h = 11 H = 0.755 $\pi$ = 0.00016	S = 7 h = 4 H = 0.340 $\pi$ = 0.00028	S = 7 h = 6 H = 0.558 $\pi$ = 0.00067	S = 6 h = 6 H = 0.322 $\pi$ = 0.00038	S = 14 h = 8 H = 0.711 $\pi$ = 0.00042	S = 20 h = 12 H = 0.788 $\pi$ = 0.00041
Sur (60)	S = 68 h = 36 H = 0.961 $\pi$ = 0.00037	S = 40 h = 22 H = 0.828 $\pi$ = 0.00035	S = 9 h = 7 H = 0.472 $\pi$ = 0.00054	S = 8 h = 6 H = 0.500 $\pi$ = 0.00087	S = 6 h = 7 H = 0.548 $\pi$ = 0.00085	S = 17 h = 10 H = 0.677 $\pi$ = 0.00066	S = 23 h = 16 H = 0.840 $\pi$ = 0.00071

**Tabla A3.** Análisis de varianza molecular (AMOVA) de todas las secuencias del gen ND2 por frecuencias haplotípicas por región. Se resaltan valores significativos en negritas ( $P < 0.05$ ).

Fuente de variación	% de variación	Índice de fijación	P
Entre grupos (norte, centro y sur)	1.87	$F_{CT} = 0.01868$	0.064
Entre localidades dentro de los grupos	-1.73	$F_{SC} = -0.01759$	0.664
Dentro de las localidades	99.86	$F_{ST} = 0.00142$	0.523

**Tabla A4.** Estimación de  $F_{ST}$  por frecuencias haplotípicas de la región control por región en parte inferior izquierda. Valores de p en parte superior derecha. Se resalta valores significativos ( $P < 0.05$ ).

	Norte	Centro	Sur
Norte	-	0.071	0.611
Centro	0.021	-	0.068
Sur	-0.007	0.024	-

**Tabla A5.** Variación de la señal de divergencia pareadas y estructura genética del genoma mitocondrial por región de acuerdo al tamaño de muestra. Se resalta valores significativos ( $P < 0.05$ ).

n	$\Phi_{ST}$	AMOVA																																
95	Sin divergencia significativa	Sin estructura genética																																
127	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Norte</th> <th>Centro</th> <th>Sur</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <th>Norte</th> <td>-</td> <td>0.721</td> <td><b>0.040</b></td> </tr> <tr> <th>Centro</th> <td>-0.008</td> <td>-</td> <td>0.255</td> </tr> <tr> <th>Sur</th> <td><b>0.013</b></td> <td>0.005</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>		Norte	Centro	Sur	Norte	-	0.721	<b>0.040</b>	Centro	-0.008	-	0.255	Sur	<b>0.013</b>	0.005	-	Sin estructura genética																
	Norte	Centro	Sur																															
Norte	-	0.721	<b>0.040</b>																															
Centro	-0.008	-	0.255																															
Sur	<b>0.013</b>	0.005	-																															
167	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Norte</th> <th>Centro</th> <th>Sur</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <th>Norte</th> <td>-</td> <td>0.834</td> <td>0.134</td> </tr> <tr> <th>Centro</th> <td>-0.006</td> <td>-</td> <td><b>0.018</b></td> </tr> <tr> <th>Sur</th> <td>0.016</td> <td><b>0.013</b></td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>		Norte	Centro	Sur	Norte	-	0.834	0.134	Centro	-0.006	-	<b>0.018</b>	Sur	0.016	<b>0.013</b>	-	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Fuente de variación</th> <th>% de variación</th> <th>Índice de fijación</th> <th>P</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Entre regiones (norte, centro y sur)</td> <td>1.03</td> <td><math>\Phi_{CT} = 0.01026</math></td> <td><b>0.034</b></td> </tr> <tr> <td>Entre localidades dentro de las</td> <td>-1.34</td> <td><math>\Phi_{SC} = -0.01352</math></td> <td>0.922</td> </tr> <tr> <td>Dentro de las localidades</td> <td>100.31</td> <td><math>\Phi_{ST} = -0.00312</math></td> <td>0.779</td> </tr> </tbody> </table>	Fuente de variación	% de variación	Índice de fijación	P	Entre regiones (norte, centro y sur)	1.03	$\Phi_{CT} = 0.01026$	<b>0.034</b>	Entre localidades dentro de las	-1.34	$\Phi_{SC} = -0.01352$	0.922	Dentro de las localidades	100.31	$\Phi_{ST} = -0.00312$	0.779
	Norte	Centro	Sur																															
Norte	-	0.834	0.134																															
Centro	-0.006	-	<b>0.018</b>																															
Sur	0.016	<b>0.013</b>	-																															
Fuente de variación	% de variación	Índice de fijación	P																															
Entre regiones (norte, centro y sur)	1.03	$\Phi_{CT} = 0.01026$	<b>0.034</b>																															
Entre localidades dentro de las	-1.34	$\Phi_{SC} = -0.01352$	0.922																															
Dentro de las localidades	100.31	$\Phi_{ST} = -0.00312$	0.779																															
198	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Norte</th> <th>Centro</th> <th>Sur</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <th>Norte</th> <td>-</td> <td>0.198</td> <td><b>0.002</b></td> </tr> <tr> <th>Centro</th> <td>0.004</td> <td>-</td> <td>0.055</td> </tr> <tr> <th>Sur</th> <td><b>0.031</b></td> <td>0.021</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>		Norte	Centro	Sur	Norte	-	0.198	<b>0.002</b>	Centro	0.004	-	0.055	Sur	<b>0.031</b>	0.021	-	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Fuente de variación</th> <th>% de variación</th> <th>Índice de fijación</th> <th>P</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Entre regiones (norte, centro y sur)</td> <td>0.83</td> <td><math>F_{CT} = 0.00830</math></td> <td><b>0.037</b></td> </tr> <tr> <td>Entre localidades dentro de las</td> <td>-0.77</td> <td><math>F_{SC} = -0.00778</math></td> <td>0.818</td> </tr> <tr> <td>Dentro de las localidades</td> <td>99.94</td> <td><math>F_{ST} = -0.00059</math></td> <td>0.572</td> </tr> </tbody> </table>	Fuente de variación	% de variación	Índice de fijación	P	Entre regiones (norte, centro y sur)	0.83	$F_{CT} = 0.00830$	<b>0.037</b>	Entre localidades dentro de las	-0.77	$F_{SC} = -0.00778$	0.818	Dentro de las localidades	99.94	$F_{ST} = -0.00059$	0.572
	Norte	Centro	Sur																															
Norte	-	0.198	<b>0.002</b>																															
Centro	0.004	-	0.055																															
Sur	<b>0.031</b>	0.021	-																															
Fuente de variación	% de variación	Índice de fijación	P																															
Entre regiones (norte, centro y sur)	0.83	$F_{CT} = 0.00830$	<b>0.037</b>																															
Entre localidades dentro de las	-0.77	$F_{SC} = -0.00778$	0.818																															
Dentro de las localidades	99.94	$F_{ST} = -0.00059$	0.572																															